Extracto Dializable de Leucocitos vs Factor de Transferencia

UN CAMBIO EN EL PARADIGMA

PÉREZ MORA SALVADOR, PÉREZ DE LA MORA CARLOS ADOLFO ,
GÓMEZ GARCÍA MARÍA DEL CONSUELO, PÉREZ GONZÁLEZ SANDRA,
PÉREZ ISHIWARA D. GUILLERMO.

Atena Editora
Ano 2023

Extracto Dializable de Leucocitos vs Factor de Transferencia

UN CAMBIO EN EL PARADIGMA

PÉREZ MORA SALVADOR, PÉREZ DE LA MORA CARLOS ADOLFO ,
GÓMEZ GARCÍA MARÍA DEL CONSUELO, PÉREZ GONZÁLEZ SANDRA,
PÉREZ ISHIWARA D. GUILLERMO.

Atena Editora
Ano 2023

Editora chefe
Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Editora executiva
Natalia Oliveira
Assistente editorial
Flávia Roberta Barão
Bibliotecária
Janaina Ramos
Projeto gráfico
Bruno Oliveira
Camila Alves de Cremo
Luiza Alves Batista
Capa
Guillermo Pérez Ishiwara
Sandra Pérez González

2023 *by Atena Editora*
Copyright © Atena Editora
Copyright do texto © 2023 Os autores
Copyright da edição © 2023 Atena Editora
Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.
Open access publication by Atena Editora

Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo do texto e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial
Ciências Biológicas e da Saúde

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso
Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília
Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Camila Pereira – Universidade Estadual de Londrina
Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto
Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí

Profª Drª Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes
Prof. Dr. Davi Oliveira Bizerril – Universidade de Fortaleza
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Guillermo Alberto López – Instituto Federal da Bahia
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de RondôniaProfª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPar
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Kelly Lopes de Araujo Appel – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal
Profª Drª Larissa Maranhão Dias – Instituto Federal do Amapá
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Luciana Martins Zuliani – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do AmazonasProfª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Max da Silva Ferreira – Universidade do Grande Rio
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federacl do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Taísa Ceratti Treptow – Universidade Federal de Santa Maria
Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

Extracto dializable de leucocitos: de una visión unimolecular, a considerarlo un medicamento complejo, constituido por péptidos bioactivos beneficiosos para la salud

Diagramação: Natália Sandrini de Azevedo
Correção: Yaiddy Paola Martinez
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Autor: Salvador Pérez Mora
Carlos Pérez De La Mora
María Del Consuelo Gómez García
Sandra Pérez González
D. Guillermo Pérez Ishiwara

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

I79 Mora, Salvador Pérez
Extracto dializable de leucocitos: de una visión unimolecular, a considerarlo un medicamento complejo, constituido por péptidos bioactivos beneficiosos para la salud / Salvador Pérez Mora, Carlos Pérez De La Mora, María Del Consuelo Gómez García. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Otros autores
Sandra Pérez González
D. Guillermo Pérez Ishiwara

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-0785-0
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.850231601

1. Inmunología humana. 2. Terapia biológica. 3. Imunoterapia. 4. Tratamento. 5. Defesas naturais do organismo. I. Mora, Salvador Pérez. II. Título.
CDD 616.079

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao conteúdo publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que o texto publicado está completamente isento de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access, desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce,* ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo representa el esfuerzo de investigadores, académicos, médicos y estudiantes de posgrado y pregrado que con su trabajo dedicado han realizado los estudios experimentales, *in silico* y clínicos que sustentan el cambio en el paradigma sobre los mecanismos de acción del Extracto Dializable de Leucocitos (EDL). Sin duda también representa la aportación que nuestros pacientes han dado con el apego a sus tratamientos, sus manifestaciones y comentarios, así como sus dudas siempre genuinas.

Los productos científicos que se presentan en este libro constituyen en buena medida tesis de posgrado de estudiantes de licenciatura, maestría y doctorado del laboratorio de Biomedicina Molecular de los grupos de investigación de los Drs. GPI y MCGG de la ENMH del Instituto Politécnico Nacional. Los estudios de espectrometría de masas y huella peptídica se realizaron con la colaboración de la Unidad de Proteómica de la Universidad Complutense de Madrid, España.

Este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda de todos los colaboradores de la empresa Farmainmune (administrativos, químicos y técnicos) quienes con su continua dedicación y trabajo realizan productos de calidad, que han sido utilizados desde hace más de 20 años en favor a la salud. Y del entusiasmo y compromiso de sus directivos quienes con la ética profesional que los caracteriza han apoyado y fomentado las labores de investigación del grupo.

El esfuerzo conjunto de la academia y la industria siempre rinde buenos frutos para la salud y bienestar de los mexicanos.

Este libro pretende ser un instrumento de consulta que aglutine de manera seria y científica las evidencias clínicas y de investigación básica de los efectos del EDL enmarcando su análisis en el contexto de un producto complejo que contiene péptidos bioactivos, que sustentan las diversas actividades biológicas y sus efectos positivos para la salud. Lo anterior, con la finalidad de desmitificar el nombre de factor de transferencia, acuñado a esta mezcla compleja de péptidos.

Los avances en métodos analíticos como los cromatográficos y los bioinformáticos nos han permitido la identificación y caracterización de diversos péptidos bioactivos en el EDL y su asociación con los efectos clínicos reportados. Adicional a la caracterización bioquímica, se presenta una revisión cronológica de las evidencias clínicas y científicas realizadas por médicos mexicanos en distintas patologías de tipo infeccioso que demostraron su efecto terapéutico. Finalmente, en la última parte del libro describimos los hallazgos más recientes del análisis ómico del EDLc, así como diversos artículos científicos de nuestro grupo de investigación, en diferentes modelos de enfermedad y en estudios clínicos que dan evidencia de los mecanismos de acción del EDLc en diversas patologías. A través de estos estudios podemos explicar los efectos fisiológicos que los diferentes péptidos bioactivos identificados pueden tener en el humano, así como establecer modelos biológicos que permitan aislarlos, caracterizarlos, y determinar sus mecanismos de acción, tanto *in vivo* como *in vitro*. Esto permitirá a su vez proyectar nuevas formas de tratar patologías complejas como la diabetes, la hipertensión, la obesidad, el síndrome metabólico, las enfermedades autoinmunes y el cáncer.

Desde el año 1949, cuando el Dr. Sherwood Lawrence en Estados Unidos estudiaba la tuberculosis, encontró que una sustancia en un extracto de leucocitos tomada de un paciente que se había recuperado de tuberculosis podía transferirle a un receptor que no había sido infectado todavía, una respuesta inmunitaria positiva a la tuberculosis y le dio el nombre de factor de transferencia. Para 1956, el mismo Lawrence junto con Pappenheimer describieron que el extracto dializable de leucocitos (EDL) era capaz de transmitir memoria inmunitaria de forma independiente de la inmunidad humoral dada por los anticuerpos. Posteriormente, Charles H. Kirkpatatrick identificó una posible secuencia consenso de aminoácidos del EDL y describió que era altamente conservada, independientemente de las fuentes y especies de donde se obtuviera. En México en los años setenta, el Dr. Sergio Estrada y el QBP. Carlos Pérez de la Mora iniciaron el desarrollo del EDL en el Instituto Politécnico Nacional.

Uno de los médicos pioneros en utilizar el EDL en pacientes pediátricos fue el Dr. Renato Berrón en el Instituto Nacional de Pediatría, donde inicio trabajos de investigación en niños con asma de difícil control y dermatitis atópica severa. Ahí fue cuando yo por primera vez tuve contacto con el EDL, durante mi formación en la especialidad de alergia e inmunología pediátrica, siendo el Dr. Berrón mi profesor de inmunología. En aquel entonces reconocíamos la utilidad clínica del EDL en las enfermedades alérgicas, así como en otras enfermedades, ya que era capaz de mejorar la evolución natural de las enfermedades. Sin embargo, a pesar de diversos reportes que documentaban su inocuidad, no se sabía que era, ni de que estaba constituido el EDL, lo cual lo ponía en una situación de falta de evidencia y posible descredito.

Todo esto llevo a que, en 1991, el Dr. Estrada Parra, junto con el QBP. Pérez de la Mora lograran conservar los péptidos de EDL. Hasta ese momento se proponía que existían moléculas menores a 5 kDa en el EDL que transferían la inmunidad específica. Pero en medicina se requiere evidencia y hasta ese entonces el EDL era un compuesto no medible y sin una explicación de los mecanismos de acción de éste. Por lo que, aun y cuando hay diversos artículos médicos donde se evidencia una clara mejoría, tras el uso de EDL, de los cuadros clínicos de una amplia gama de enfermedades, que van desde hipersensibilidad tipo I, inmunodeficiencias primarias y secundarias, cáncer, procesos infecciosos, alteraciones cutáneas, y enfermedades autoinmunes entre otros, existen profesionales de la salud que son escépticos a su uso.

Por eso, me complace presentarles este libro donde el Dr. Pérez-Ishiwara

y cols., así como la empresa Farmainmune presentan las investigaciones que en los últimos años se han realizado a nivel mundial, así como sus propias investigaciones demostrando los distintos péptidos que constituyen el EDL. Estos estudios incluyen el análisis proteómico, pasando a la obtención de interactomas con STRING, y su análisis bioinformático, proponiendo los mecanismos moleculares modulados por el EDL que modifican la historia natural de la enfermedad.

Para los médicos que en el día a día nos enfrentamos a la toma de decisiones en beneficio de los pacientes, este libro será de gran aportación para que, con toda la evidencia aquí mostrada, podamos respaldar el uso de EDL. Considerando al EDL el descubrimiento mas impactante en la medicina preventiva del siglo XXI, su utilización como un medicamento complejo, constituido de péptidos bioactivos, tanto para tratamiento de ciertas enfermedades, como preventivo en el desarrollo de estas, constituye una línea de estudio fundamental que en los próximos años seguramente nos llevará a una medicina que sonaba a ficción, pero que actualmente la empezamos a ver como real.

Dra. Patricia Gómez García
Alergia e Inmunología Clínica
Hospital Ángeles del Pedregal

SUMÁRIO

RESUMEN **1**

INTRODUCCIÓN **3**

DEFINICIÓN Y ORIGEN DE LOS PÉPTIDOS BIOACTIVOS **4**

Procesos tecnológicos para obtener péptidos bioactivos 4

Cromatografía 4

Membranas–Ultrafiltración y Nanofiltración 5

Fuentes de péptidos bioactivos "derivados de productos alimenticios" 5

Absorción de los péptidos bioactivos 8

Efectos de los péptidos bioactivos sobre la salud 8

Actividad antioxidante 9

Actividad Antimicrobiana 11

Actividad Opiácea 12

Metabolismo energético 12

Actividad hipocolesterolémica 13

Actividad Antitrombótica 14

Actividad hipotensora 15

Actividad inmunomoduladora 16

Actividad Anticancerígena 17

EXTRACTO DIALIZABLE DE LEUCOCITOS (EDL) Y SUS EFECTOS EN DISTINTAS PATOLOGÍAS **19**

PROCESOS BIOLÓGICOS CELULARES Y MOLECULARES ESENCIALES PARA LA VIDA Y SU ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO **24**

El proteoma, definición, fundamentos, importancia y análisisbioinformático 25

PROTEÓMICA DEL EDLC **27**

ANÁLISIS ÓMICO, MECANISMOS DE ACCIÓN Y BENEFICIOS PARA LA SALUD DEL EDLC **29**

EDLc como inmunomodulador del sistema inmune 33

EDLc como posible regulador de la inflamación.....35

EDLc como posible inductor en la biosíntesis de prostaglandinas 37

EDLc como regulador del ciclo celular 39

EDLc como regulador de la apoptosis 40

EDLc como agente homeostático de la glucosa 42

Regulación de la cascada de coagulación por el EDLc 44

Regulación de la presión arterial por el EDLc 46

EDLc como posible antagonista en la vía nociceptiva del sistema nervioso central 47

Inducción de la regeneración del tendón por EDLc 48

PUBLICACIONES REPRESENTATIVAS DEL EXTRACTO DIALIZABLE DE LEUCOCITOS EN PATOLOGÍAS DIVERSAS..... 51

I. La influenza A, como un problema mundial: "Una Visión de las terapias inmunomoduladoras" 51

II. Anti-inflammatory effect of dialysable leucocyte extract in a rat model of osteoarthritis: histopathological and molecular characterization 51

III. Effect of Dialyzable Leukocyte Extract on chronic cervicitis in patients with HPV infection 52

IV. Anti-Inflammatory Effect of Dialyzable Leukocyte Extract in Autoimmune Prostatitis: Evaluation in Animal Model 53

V. Efecto inmunomodulador del Extracto Dializable de Leucocitos (DLE) sobre la expresión génica de IFN-γen células Jurkat 53

VI. Efecto inmunomodulador y anti-inflamatorio de la profilaxis con el Extracto Dializable de eucocitos (EDLp) en un modelo murino de influenza A. 54

EXPECTATIVAS Y FUTURO BIOTECNOLÓGICO Y MÉDICO DE LOS PÉPTIDOS BIOACTIVOS Y DEL EDLC COMO MEDICAMENTOS COMPLEJOS 55

Usos y proyección de los péptidos bioactivos terapéuticos del 2020 al 2030 56

Perspectivas.....57

FIGURAS COMPLEMENTARIAS.....58

REFERENCIAS 68

SOBRE LOS AUTORES.....79

SOBRE EL AUTOR CORRESPONDIENTE.....80

INDICE

RESUMEN

La inmunoterapia, también denominada terapia biológica, es un tipo de tratamiento que estimula las defensas naturales del organismo a fin de combatir diversas enfermedades complejas en las que está comprometido el sistema inmune o en aquellas que requieren de la regulación y buen funcionamiento de este. Se utilizan sustancias producidas por el cuerpo o fabricadas en un laboratorio para restaurar, estimular o reponer la función inmune en cáncer, infecciones u otras enfermedades degenerativas, así como para aminorar los efectos secundarios de los tratamientos empleados. El objetivo puede ser profiláctico (prevención) o terapéutico (curativo o de mantenimiento). Dentro de la inmunoterapia se encuentra el uso de anticuerpos, vacunas, factores de crecimiento, diversos compuestos extraídos de las plantas y de particular relevancia el EDL, "erróneamente llamado factor de transferencia".

Las moléculas activas implicadas en la inmunoterapia se denominan inmunomoduladores. La mayor parte son citoquinas y algunas de ellas, como por ejemplo el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF, Granulocyte colony-stimulating factor) o el interferón, ya están siendo usados ampliamente en la clínica. Otros tipos de citoquinas como las interleucinas 1,2,6,8 o el factor de necrosis tumoral [TNF-α] se están utilizando en numerosos ensayos clínicos y otros estudios preclínicos para su futuro uso en inmunoterapia.

El EDL es una mezcla compleja de péptidos bioactivos obtenidos de leucocitos de sangre periférica humana o de tejidos linfoides de diversas especies. De manera particular, el EDLc, desarrollado y adaptado biotecnológicamente para su uso en humanos por Farmainmune SA de CV, constituye uno de los mejor caracterizados a nivel molecular y de los cuales en este libro presentamos las evidencias científicas de su composición mediante análisis proteómicos 2D, proteómica total acoplada a masas (Maldi-TOF-TOF) y mediante el empleo de técnicas bioinformáticas para predecir los péptidos bioactivos, que de manera científica se ha demostrado en la literatura su actividad y beneficio para la salud humana.

La práctica clínica y diversos estudios de investigación sugieren que el EDL obtenido de tejidos linfoides de diversas especies, es una opción de tratamiento seguro y efectivo para una gama importante de patologías. Sin embargo, debido al amplio espectro de actividad biológica, producto de la complejidad y diversidad de péptidos que contiene, hace que el estudio de los mecanismos de acción sea complejo y en muchos casos su probable acción no esté suficientemente documentada e investigada, motivando incredulidad y en ocasiones descrédito.

Continuar con la investigación sistematizada sobre: i) la composición exacta; ii)

la hidrólisis gastrointestinal y la liberación de péptidos bioactivos específicos; y iii) los mecanismos de acción y la biodisponibilidad de los péptidos que lo componen permitirá, una mejor prescripción para patologías específicas, así como para el desarrollo de nuevos medicamentos y terapias novedosas y específicas que coadyuven con los tratamientos actuales. A nivel comercial existen algunos productos que se han lanzado al mercado afirmando actividades biológicas específicas y efectos terapéuticos particulares, sin embargo, muchos de esos productos carecen de un control de calidad específico y de investigaciones científicas que soporten sus efectos para la salud.

INTRODUCCIÓN

Los cambios socioeconómicos y demográficos, así como los dramáticos cambios en el estilo de vida y en la alimentación de los individuos, han favorecido la aparición de enfermedades complejas crónico-degenerativas que requieren desarrollar nuevos medicamentos que tengan menos efectos adversos que los medicamentos de patente empleados rutinariamente (Martinez-Lacoba et al., 2018).

Una opción viable para cierto tipo de patologías es el uso potencial de ciertos péptidos bioactivos, que poseen diversas actividades biológicas que ayudan a mantener la homeostasis y la salud de las personas; a reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades; o incluso a coadyuvar en el tratamiento integral de patologías específicas (Yeo y Shahidi, 2021).

Teniendo en consideración que el EDL es una mezcla compleja de los componentes de bajo peso molecular que se obtienen de las células inmunes, y que al igual que los péptidos bioactivos derivados de diversos alimentos, contienen diversos compuestos de naturaleza nitrogenada, tales como proteínas, ácidos nucleicos, aminoácidos libres y otros compuestos minoritarios. En este libro se expondrán los hallazgos y argumentos para definir al extracto dializable de leucocitos como una mezcla compleja de péptidos bioactivos, en vez de la antigua definición unimolecular de “factor de trasferencia”, que confería inmunidad mediante una hipotética molécula de bajo peso molecular.

DEFINICIÓN Y ORIGEN DE LOS PÉPTIDOS BIOACTIVOS

Los péptidos bioactivos son pequeñas cadenas peptídicas compuestas por 2 a 15 residuos de aminoácidos, no obstante, Kitts y Weiler en el 2005 mencionan que los péptidos bioactivos obtenidos de los alimentos pueden tener entre 2 y 9 residuos de aminoácidos. Aun así, puede haber excepciones ya que existen péptidos con más de 20 residuos de aminoácidos, tal como la lunasina, péptido extraído de la soya con actividad anticancerígena probada en ratas, el cual presenta 43 residuos de aminoácidos y un peso molecular de 5400 Da (Seber et al., 2012). En concordancia con lo anterior, los péptidos bioactivos han sido definidos como fragmentos específicos de proteínas, de origen animal o vegetal, que tienen un impacto positivo sobre funciones o condiciones corporales y pueden tener influencia sobre la salud humana, más allá de una nutrición normal y adecuada. Es por ello, que, dependiendo de la secuencia de aminoácidos en el péptido, su administración oral podría afectar alguno de los principales sistemas del organismo, entre los cuales destacan, el cardiovascular, el nervioso, el gastrointestinal y el inmunológico (Peighambardoust et al., 2021).

Diversas investigaciones han mostrado que los péptidos bioactivos pueden existir como entidades independientes o pueden ser parte de una proteína que durante la digestión gastrointestinal son liberados (Sánchez y Vázquez et al., 2017). Los péptidos bioactivos presentan una solubilidad en agua cercana al 100% en un intervalo amplio de pH y tienen la característica de ser hipoalergénicos. También se sabe que los péptidos difunden al interior de la célula a través de un transporte pasivo, aunque también lo pueden hacer vía transportadores localizados en la membrana o bien, transportarse del espacio intersticial hacia el espacio linfático intestinal (Chauhan y Kanwar, 2019).

Procesos tecnológicos para obtener péptidos bioactivos

Los procesos de producción a escala piloto de péptidos bioactivos utilizan típicamente membranas de ultrafiltración y cromatografía de líquidos, procesando secuencialmente el fraccionamiento y aislamiento de compuestos bioactivos a partir de hidrolizados. El diseño de procesos para la separación de péptidos se basa en propiedades moleculares tales como el tamaño, la carga, la polaridad y la hidrofobicidad (Agyei y Danquah, 2011).

Cromatografía

La cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), las columnas de fase normal, las de fase inversa y de intercambio iónico se han empleado para separar, identificar y purificar péptidos bioactivos dependiendo de sus características biofísicas (Jaworska

et al., 2012). Además, existen otras técnicas como la ultrafiltración, la cristalización, la cromatografía de partición y la cromatografía de interacción hidrofóbica a baja presión que también están siendo empleadas para el fraccionamiento y purificación de proteínas (Barati et al., 2020 y Bechaux et al., 2019). Recientemente, la ionización por electrospray y espectrometría de masas, constituyen una herramienta importante para la identificación y caracterización de proteínas (Kaur-Atwal et al., 2007).

Membranas–Ultrafiltración y Nanofiltración

La separación mediante el uso de membranas son herramientas eficientes para el desarrollo de productos con valor añadido como los péptidos bioactivos. Estos procesos de separación se basan en la permeabilidad selectiva de uno o más líquidos a través de una membrana de acuerdo con la diferencia de presión. Las técnicas de membrana impulsadas por presión, la ultrafiltración y nanofiltración se han aprobado para el fraccionamiento de hidrolizados de proteínas debido al hecho de que el peso molecular de la mayoría de los péptidos bioactivos se encuentra dentro del rango normal del tamaño de poro de estas membranas (Picot et al., 2010).

La ultrafiltración se aplica comúnmente para preparar soluciones enriquecidas de péptidos a partir de hidrolizados de proteínas y se utiliza para separar péptidos con un peso molecular aproximado de 7 a 10 kDa (Boukil et al., 2018). Sin embargo, la combinación de procesos de ultrafiltración y nanofiltración permite obtener polipéptidos <1 kDa (Picot et al., 2010).

En Farmainmune la mezcla de péptidos bioactivos que constituyen el EDLc son obtenidos a partir del tejido linfoide de cocodrilo, este se obtiene y purifica por medio de hidrólisis enzimática del tejido, seguido de una serie de filtraciones a través de membrana impulsadas por presión, y finalmente, es enriquecido y concentrado por ultrafiltración.

FUENTES DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS “DERIVADOS DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS”

Cualquier proteína independientemente de sus funciones puede ser empleada como fuente de péptidos con actividad biológica. Entre las proteínas precursoras de biopéptidos, destacan las proteínas lácteas, tanto de la caseína como del suero, de las que se han aislado péptidos con actividad antihipertensiva, opioide, antimicrobiana e inmunomoduladora. Igualmente, destacan las proteínas de la carne de pollo y del huevo, que son importantes fuentes de biopéptidos con actividad antihipertensiva. Por su parte, la colágena y la elastina son precursores de péptidos con actividad anticoagulante (Akbarian et al., 2022, Peighambardoust et al., 2021, Wang et al., 2018 y Sánchez y Vázquez, 2017).

Los péptidos bioactivos también se pueden obtener de otras fuentes animales y

vegetales como el pescado, las ostras y los cereales (arroz, trigo, soya, trigo sarraceno, cebada y maíz). Por ejemplo, los péptidos GGGGYPMYPLR y GLF poseen actividad inmunoestimulante, activando la fagocitosis de neutrófilos en humanos, y estimulando el factor de necrosis tumoral (TNF) cuando es administrado en ratones (Agyei et al., 2016 y Kamau et al.,2010). Los péptidos IVF, RAADPFL y YAEERPIL presentes en un hidrolizado de clara de huevo con pepsina, presentan actividad antihipertensiva en ratas en dosis mínimas eficaces de 2-4 mg/kg (Miguel et al., 2007). La endomorfina-1 (EM1, Tyr- Pro-Trp-Phe-NH 2) y endomorfina-2 (EM2, Tyr-Pro-Phe-Phe-NH 2), son dos péptidos activos identificados y aislados del cerebro de bovino y humano por el grupo de Zadinaen en 1997 (Greenwell et al., 2007). Los lactotripéptidos valina- prolina-prolina (VPP) e isoleucinaprolina-prolina (IPP) que poseen actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), presentan un valor de concentración inhibitoria del 50 % (IC50) de 9,0 y 5,0 µmol, respectivamente (Domínguez et al., 2014). De igual manera, el péptido IPP aislado de la caseína de una bebida láctea japonesa se demostró que disminuye significativamente la presión sanguínea de pacientes hipertensos después de 4-8 semanas de ingesta de leche agria conteniendo este péptido (González-González y Jauregi, 2013). Otras investigaciones, por ejemplo, han logrado obtener péptidos con actividad inhibidora de ECA mediante digestión con pepsina de proteínas del garbanzo (*Cicerarietinum*), lupino (*Lupinusalbus*), frijol común (*Phaseolusvulgaris*), guisante (*Pisumsativum*), soya (*Glycinemax*), y lenteja (*Lens culinaria*) (Peighambardoust et al., 2021, Wang et al., 2018 y Akbarian et al., 2022).

También se ha descrito que las semillas de frijol contienen dos proteínas importantes, entre los que se incluye el inhibidor de la α-amilasa y la fitohemaglutinina, las cuales modulan la absorción de glucosa y la regulación del apetito, respectivamente. De igual modo, han sido reportados dos péptidos bioactivos (Gly-Gly-Ser-Lys y Glu-Leu-Ser) capaces de inhibir a la α-amilasa, lo cual impide la digestión del almidón, reduce la absorción de glucosa y, por lo tanto, disminuye la síntesis y almacenamiento de grasa favoreciendo la diabetes mellitus (Admassu et al., 2018). Por su parte, el tripéptido bioactivo Arg-Ile-Tyr fue aislado a partir de la digestión de la napina, una de las principales proteínas de almacenamiento de las flores de canola. El tripéptido redujo la presión arterial tras su administración oral en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) (Yamada et al., 2010). Además, el mismo péptido disminuyó la ingesta de alimentos y el vaciado gástrico tras su administración oral a través del sistema de las colecistoquininas (Kaneko, 2021). Del Amaranthus se han obtenido péptidos con actividad biológica, entre los que se encuentran inhibidores de proteasas y alfa-amilasas, péptidos antimicrobianos y antifúngicos que poseen un dominio rico en cisteína/glicina, característico de proteínas unidoras de quitina (Peighambardoust et al., 2021).

La asociación entre la nutrición y la inmunidad es un hecho reconocido desde hace tiempo. Existen estudios que demuestran que péptidos bioactivos derivados de diferentes fuentes de proteínas ejercen efectos inmunomoduladores *in vitro* e *in vivo* (Sánchez y Vázquez, 2017). Yoshikawa y colaboradores en el 2000 aislaron de la soya el péptido soymetide-13 (Met-Ile-Thr-Leu-Ala-Ile-Pro-Val-Asn-Lys-Pro-Gly- Arg) derivado de la subunidad α de la β-conglicinina, el cual estimula la fagocitosis en leucocitos polimorfonucleares en humano. El péptido, His- Cys-Gln- Arg-Pro-Arg aislado de la digestión de glicinina de soya, también ha mostrado actividad inmunoestimulante al activar la fagocitosis de neutrófilos en humanos, y estimular la producción del factor de necrosis tumoral (TNF) cuando fue administrado en ratones (Sánchez y Vázquez, 2017).

Otros péptidos que contienen aminoácidos con residuos aromáticos pueden tener actividades antioxidantes. Por ejemplo, se ha informado que péptido Gln-Gly-Ala- Arg-Leu-Glu tienen un papel importante en la neutralización de radicales libres. Sin embargo, se necesitan investigaciones adicionales para determinar la relación estructura/función de este tipo de péptidos antioxidantes. La capacidad antioxidante de ciertos hidrolizados se atribuye a péptidos con secuencia Leu-Leu- Pro-His-His, ya que los péptidos que contienen histidina en su estructura pueden actuar como quelantes de metales, captadores de radicales hidroxilos y de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Yoshikawa et al., 2000).

Las proteínas obtenidas de la sangre de los animales, constituye una fuente potencial para la obtención de péptidos bioactivos para el desarrollo de posibles fármacos y la producción de alimentos con valor agregado. Por ejemplo, se han obtenido hidrolizados activos de la digestión péptica de la hemoglobina porcina, y del extracto de músculo de pechuga de pollo, que mostraron actividad hipotensora en un modelo de ratas hipertensas (Zhong et al., 2008).

Actualmente, en nuestro grupo de investigación hemos identificado distintos péptidos bioactivos derivados del análisis proteómico del EDLc mediante análisis bioinformáticos específicos (ver capítulo V). Por ejemplo, el péptido VEGY que ha sido reportado como péptido antihipertensivo por Admassu y colaboradores en el 2018, se identificó en péptidos pertenecientes a las proteínas LRP1, ARPC4 y DHX9. Asimismo, el péptido YIGSR que ha mostrado un efecto inhibitorio en el crecimiento tumoral y en la metástasis por la inducción de apoptosis (Yoshida et al., 1999) se identificó en la proteína LAMB1. De igual manera, otros péptidos que han demostrado poseer la capacidad de regular la glucosa en personas diabéticas, como los péptidos RPYL (Cicero et al., 2017), GPGA y GPAE (Oseguera-Toledo, et al., 2015), fueron identificados en las proteínas PSMA2, aminopeptidasa B y EEF2, respectivamente. El proceso del sistema renina-angiotensina-aldosterona también puede ser regulada por distintos péptidos bioactivos, la enzima ECA es la principal reguladora de

este sistema y es inhibida por los péptidos LPHF (Chatterjee et al., 2018), MKP (Majumder et al., 2003) y SVAR (Lafarga et al., 2016), se encontraron en las proteínas SNRNP200, SPTAN1 y plastina 1, respectivamente.

ABSORCIÓN DE LOS PÉPTIDOS BIOACTIVOS

Como hemos visto a lo largo de este capítulo, existe un gran cúmulo de evidencias *in vitro* de los efectos biológicos de diversos péptidos bioactivos, sin embargo, es importante señalar que dichos péptidos están sujetos a la degradación y modificación en el intestino, en el sistema vascular y en el hígado. Lo que sugiere que deben ser capaces de superar las barreras y alcanzar su órgano blanco en una forma activa (Kitts y Weiler, 2005). Diversas investigaciones han demostrado que péptidos con 2-6 aminoácidos se absorben más fácilmente en comparación a las proteínas y aminoácidos libres. Otro grupo de investigadores han descrito que los pequeños (dipéptidos y tripéptidos) y grandes (10-51 aminoácidos) péptidos pueden cruzar intactos la barrera intestinal y presentar sus funciones biológicas a nivel tisular. Sin embargo, a medida que el peso molecular de los péptidos se incrementa, su oportunidad de pasar la barrera intestinal disminuye. Además de esto, se ha descrito que la presencia de prolina e hidroxi-prolina contribuye de manera muy importante en la resistencia peptídica a las enzimas digestivas, especialmente tripéptidos con Pro-Pro en el extremo C-terminal son resistentes a las peptidasas específicas de prolina (Chauhan y Kanwar, 2019). La literatura científica evidencia que estos péptidos pueden atravesar el epitelio intestinal y llegar a tejidos periféricos vía circulación sistémica, pudiendo ejercer funciones específicas a nivel local, en el tracto gastrointestinal y a nivel sistémico (Mulero-Cánovasa et al., 2011 y Peighambardoust et al., 2021). Los péptidos y proteínas pueden escapar a la digestión y ser absorbido en una forma intacta a través del espacio intersticial en el sistema linfático intestinal. Sin embargo, la capacidad de los compuestos para entrar en el sistema linfático intestinal se ve afectada por su permeabilidad a través de los capilares de la circulación portal y la solubilidad de los lípidos. Se ha propuesto que los fármacos transportados a través del sistema linfático gastrointestinal pueden escapar del metabolismo hepático. Es así como el tamaño y las propiedades estructurales moleculares, tales como la hidrofobicidad, afectan a la ruta de transporte importante para los péptidos (Chauhan y Kanwar, 2019).

EFECTOS DE LOS PÉPTIDOS BIOACTIVOS SOBRE LA SALUD

Aunque existen diversos fármacos para curar o aletargar el progreso patológico en ciertas enfermedades en los seres humanos, sus efectos secundarios pueden ser mayores que los beneficios. En este contexto, los péptidos derivados de proteínas de

origen alimenticio tienen un potencial muy importante como alternativas naturales a los medicamentos (Nongonierma y Fitzgerald, 2015 y Torres-Llanez et al., 2005).

Como se mencionó anteriormente, la actividad biológica dependerá de la secuencia de aminoácidos que conformen los péptidos hidrolizados, estos tendrán la capacidad de regular diversos procesos fisiológicos, alterando el metabolismo celular y actuando como hormonas o neurotransmisores a través de interacciones hormona-receptor y cascadas de señalización. También pueden ejercer su acción sobre la regulación del metabolismo, controlando las glándulas de excreción, ajustando la presión arterial, ejerciendo efectos sobre el sueño, memoria, dolor, apetito y ciertos efectos sobre el sistema nervioso central (SNC) (Mulero-Cánovasa et al., 2011 y Peighambardoust et al., 2021). Dependiendo de su secuencia de aminoácidos, estos péptidos bioactivos pueden tener un impacto significativo que podemos englobar en 4 ámbitos de la salud (**Fig. 1**).

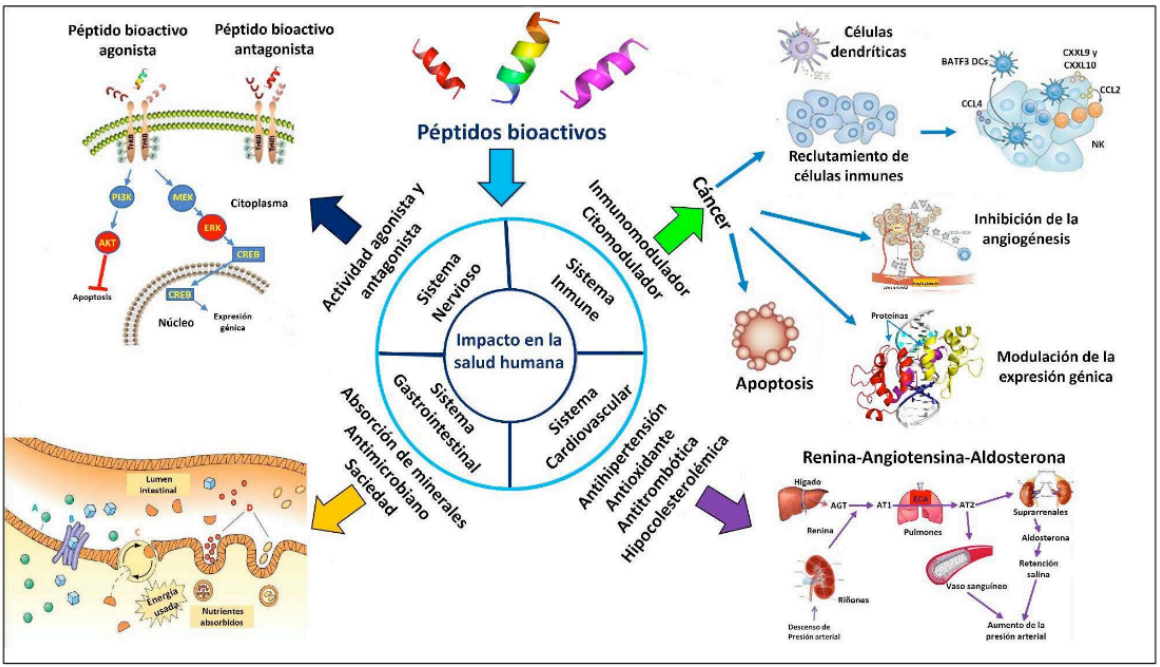

Figura 1.Péptidos bioactivos y sus funciones vitales sobre la salud en un organismo.

Actividad antioxidante

Este grupo de compuestos no solo son importantes en la prevención de la oxidación en los alimentos, sino también es fundamental su participación en evitar la oxidación de proteínas, lípidos y otras moléculas de la célula. Estos péptidos interactúan con los

radicales libres, producto del metabolismo, evitando que las especies reactivas de oxígeno o nitrógeno se unan a moléculas de la membrana plasmática, el citosol y el núcleo, entre otros (Mulero-Cánovasa et al., 2011).

Diversos estudios han mostrado que los péptidos antioxidantes son inhibidores de la peroxidación de lípidos y a su vez quelantes de iones metálicos. Además, se ha reportado que estos péptidos son capaces de activar y modular el sistema antioxidante endógeno, regulando la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa, entre otras (Peighambardoust et al., 2021, Kitts y Weiler, 2005 y Sánchez y Vázquez, 2017).

Diversas circunstancias metabólicas generan la sobreproducción de ciertas especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno, que, al superar la capacidad del sistema antioxidante para eliminarlas, da como resultado el estrés oxidativo. El cual es un promotor fundamental para el desarrollo de una variedad muy importante de enfermedades crónico-degenerativas (Chauhan y Kanwar, 2019).

Los aminoácidos con residuos aromáticos pueden donar electrones a las moléculas reactivas deficientes en ellos. Se propone que la actividad antioxidante de los péptidos aromáticos está en relación con el atrapamiento del grupo peroxilo de los lípidos, donando el radical hidrógeno o a través de la capacidad quelante del grupo imidazol. Por otro lado, el grupo SH presente en las cisteínas tiene una acción antioxidante *per se*, debido a su interacción directa con los radicales. Por otra parte, se ha demostrado que la digestión de la caseína produce péptidos fosforilados que presentan actividad antioxidante hidrofílica y lipofílica debido a la quelación de iones metálicos como a la extinción de las especies reactivas de oxígeno (Aluko, 2015 y Clare y Swaisgood, 2000).

Es así como se han diseñado péptidos sintéticos a partir de la estructura de un péptido antioxidante (Leu-Leu-Pro-His-His), producto de la digestión de una proteína de la soya (Chauhan y Kanwar, 2019).

Otros péptidos bioactivos, como VECYGPNRPQF, WYSLAMAASDI, LVNPHDHQNLK, WYSLAMAASDI, poseen actividad quelante y por lo tanto, ejercen un efecto antioxidante (Lo et al., 2016, Boutrou et al., 2015 y Nongonierma y Fitzgerald, 2015).

Escudero y colaboradores en el 2013 identificaron la alta capacidad antioxidante del péptido GLAGA proveniente del jamón curado español y Xing y colaboradores en el 2016 obtuvieron el péptido DLEE de carne (músculo) de bovino. Nosotros hemos encontrado en los análisis bioinformáticos realizados que ambos péptidos estas presentes en el EDLc, el primero se encuentra en las proteínas talina 1 y VPS13A, mientras que el péptido DLEE en las proteínas KRT2, proteína disulfuro isomerasa, CAPZA2, RALB, OGDHL–2, calmodulina, factor de elongación 2 y KIF15. Bougatef y colaboradores en el 2010 obtuvieron siete péptidos bioactivos de la sardina. Las secuencias de aminoácidos de los siete péptidos

fueron: LARL, GGE, LHY, GAH, GAWA, PHYL y GALAAH. Todos los péptidos fueron <600 Da y se consideraron nuevos péptidos antioxidantes. Reportaron que el péptido LHY mostró la mayor actividad de eliminación de radicales evaluada por DPPH, con la capacidad de eliminar el 63% del radical presente al usar una concentración del péptido de 150 μg/ml. LHY se identificó en las secuencias peptídicas de las proteínas filamina A y C, proteína SET, talina 1, SEPTINA2, glutatión s-transferasa y MACF1 encontradas en el análisis del EDLc. El tetrapéptido LARL fue identificado en anexina A6, LAMB1, ANP32E y OGDH–2. Mientras que el dipéptido GGE se localizó en las proteínas Rab GDP, HSP70, proteína Z, hnRNP 1, proteína disulfuro isomerasa, DDB1 y profilina 2, entre otras. El tripéptido GAH también se encontró en diversas proteínas del EDLc como GNPDA1, HNRNPA2B1, fibronectina, glutatión S-transferasa y MAT2A. Y finalmente, el péptido GAWA solo se identificó en la proteína malectina.

Actividad Antimicrobiana

El modo de acción y efectividad de estos péptidos biológicamente activos como agentes antimicrobianos varían de acuerdo con sus características estructurales, tamaño, composición de aminoácidos, carga, hidrofobicidad y estructura secundaria. Estos péptidos están constituidos por cadenas cortas de aminoácidos con características hidrofóbicas y carga positiva, lo que les permite alterar la bicapa lipídica de los microorganismos al intercalarse en ella de manera similar a como lo hacen las proteínas formadoras de canal, lo cual conlleva a la muerte de la célula debido a la pérdida de iones y sustancias metabólicas (Perumal et al., 2013). La sangre coagulada bovina, un subproducto de los mataderos, se ha descrito como una rica fuente de péptidos antimicrobianos. Se ha obtenido al péptido TKSKYR a partir de la hemoglobina, este es un péptido antimicrobiano hidrofílico de tamaño pequeño (653 Da) que además presenta un efecto conservante de la carne reduciendo la oxidación de los lípidos en un 60% para retrasar el enranciamiento de esta. Además, el péptido inhibió el crecimiento microbiano bajo refrigeración durante 14 días. Estos efectos antimicrobianos de los péptidos eran similares a los del BHT (butylated hydroxytoluene) (Przybylski et al., 2016).

La identificación de péptidos antimicrobianos, a la luz de la amplia aparición de cepas resistentes a los antibióticos convencionales, vislumbra un amplio y promisorio campo de acción e investigación que podría llevar al descubrimiento de nuevas moléculas para el tratamiento de múltiples enfermedades. Jang y colaboradores en el 2008, evaluaron el efecto antimicrobiano del tripéptido FHG, encontrando que este es capaz de inhibir el crecimiento de la cepa *Pseudomonas aeruginosa*, interesantemente, el análisis proteómico y bioinformático del EDLc mostró que este tripéptido está presente en las proteínas plastina 2, PTK y HNRPH3 y glutamato deshidrogenasa.

Actividad Opiácea

Los péptidos con actividad opiácea (endógenos o exógenos), también llamados exorfinas, se definen como péptidos que presentan afinidad por receptores opiáceos y actúan como moduladores exógenos de la motilidad intestinal, permeabilidad epitelial y de la liberación de hormonas (Mulero-Cánovasa et al., 2011 y Zioudrou et al., 1979). El objetivo principal del estudio de los opioides ha sido el tratamiento del dolor, estos activan receptores específicos del SNC ejerciendo un efecto analgésico, tal es el caso de la morfina. Los péptidos bioactivos derivados de las proteínas de la leche pueden funcionar como exorfinas. Estos poseen actividades farmacológicas homólogas a las de la morfina y la naloxona (Gobbetti et al., 2002). Otro ejemplo de la función opioide son la casomorfinas, estas pueden producir analgesia, modular el comportamiento social, influir en el metabolismo posprandial al estimular la secreción de insulina y somatostatina, además de favorecer la absorción gastrointestinal de nutrientes al prolongar el tiempo de tránsito gastrointestinal y ejercer un efecto antidiarreico (Meisel y Schlimme, 1990). El tetrapéptido YGLF que es obtenido de las proteínas de la leche (Meisel, 1999) y ha mostrado poseer actividad opioide, está presente en proteína talina 2 del EDLc.

Metabolismo energético

En la actualidad existen diversos medicamentos hipoglucemiantes orales que se encuentran agrupados según su principal mecanismo de acción, por ejemplo, secretagogos de insulina, reductores de la producción hepática de glucosa, sensibilizadores de la insulina e inhibidores de las α-glucosidasas intestinales (Patil et al., 2020).

Algunos de estos fármacos se presentan efectos secundarios, entre los que destacan; riesgos cardiovasculares, disfunción endotelial, resistencia a insulina y producción de radicales libres, entre otros. Este hecho puede ser aminorado de manera importante, al emplear secuencias específicas que promuevan la actividad hipoglucemiante.

Recientemente, se ha reportado la actividad y los mecanismos moleculares de péptidos bioactivos como reguladores de la glucosa, esto es posible al inhibir a las α-glucosidasas, α-amilasa y dipeptidil peptidasa-Inhibidores IV (DPP-IV), en contraste también son capaces de inducir la secreción de incretinas, insulina y captación de glucosa, además de disminuir la producción de esta (Patil et al., 2015).

Un magnífico efecto especifico es el descubrimiento del péptido MC2-1-5 cuyos primeros 10 aminoácidos en posición N-terminal corresponden a la secuencia GHPYYSIKKS aislada de *Momordicacharantia*. Dicho péptido redujo los niveles de glucosa inducida con aloxano en ratones en un 61,70 y 69% a las 2 y 4 horas posterior a su administración a dosis de 2 mg/kg. La evaluación de tolerancia a la glucosa oral mostró que el MC2-1-5

produjo una reducción del nivel de glucosa de 25, 50, 39, 62 y 41.74% después de 1, 2 y 3 h de administración oral respectivamente, comparado con un grupo control (Yuan et al., 2008).

Otros péptidos bioactivos reportados que regulan la glucosa en sangre son el dipéptido WV (aislado de caseína), este bloquea a los inhibidores de la enzima α- amilasa dipeptidil peptidasa-Inhibidores IV (-IV), lo que induce la activación de DPP (α-amilasa dipeptidil peptidasa) e incretinas, las cuales en conjunto incrementan la secreción de insulina y la disminución de la glucosa (Arrutia et al., 2016).

Se identificaron 129 repetidos del dipéptido WV en las secuencias de las proteínas del EDLc, algunas de estas son plastina 2 y 3, SPTAN1 y triosa fosfato isomerasa, entre otras. El tetrapéptido GPAE (gelatina de piel de salmón) se localizó en el EDLc, en secuencias peptídicas de la filamina A, C, y del factor de elongación 2, este también bloquea a los inhibidores de la DPP (Li-Chan et al., 2012). Los mismos autores encontraron que el tetrapéptido GPGA (gelatina de piel de salmón) tiene el mismo efecto, este se identificó en las secuencias de la filamina B, la aminopeptidasa B y RAB1C.

De la misma manera, Morato y colaboradores en el 2013 aislaron de la piel de salmón el dipéptido LI, el cual induce la translocación del receptor Glut 4 (proteína transportadora de glucosa regulada por la insulina) a la membrana plasmática. El dipéptido también se localizó en secuencias peptídicas del EDLc, entre ellas la Glutamil aminopeptidasa, la MACF1 y ARV1.

Actividad hipocolesterolémica

La dislipidemia, caracterizada por concentraciones elevadas de lípidos en suero, constituye un factor de riesgo muy importante para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. El efecto hipocolesterolemiante de los péptidos bioactivos se atribuye a dos acciones principales: i) los péptidos bioactivos inhiben la absorción del colesterol, posiblemente debido a que evitan la solubilidad micelar del mismo y II) algunos péptidos pueden incrementar la concentración o el número de los receptores LDL que están crónicamente suprimidos por la hipercolesterolemia (Peighambardoust et al., 2021, Sánchez y Vázquez, 2017 y Kitts y Weiler, 2005).

Se ha identificado una actividad hipocolesterolémica en la soya y particularmente en un péptido bioactivo obtenido de ella que estimula la secreción de ácidos biliares, el cambio en el metabolismo del colesterol en el hígado y la regulación de los receptores de colesterol. Sin embargo, es relevante mencionar que estos efectos identificados *in vitro* no pueden extrapolarse de manera directa al ser humano en virtud de que se tiene que considerar la biodisponibilidad del péptido bioactivo, ya que los péptidos tienen que permanecer activos durante la digestión de las proteasas en el estómago y ser transportados a través de la

pared intestinal a la sangre (Wergedahl et al., 2004).

Diversos estudios han observado que hidrolizados de proteína de soya mostraron una disminución del colesterol plasmático que emplear las proteínas de soya completas e intactas. Además de los péptidos derivados de la soya, otros péptidos bioactivos con efecto hipocolesterolémico han sido obtenidos a partir de B- Lactoglobulina, hidrolizado de proteína de carne de cerdo y proteína vegetal (Mulero-Cánovasa et al., 2011).

También se ha sugerido que existen biopéptidos de origen lácteo que influyen sobre la regulación del colesterol sérico, tal es el caso de la lactostatina (derivada de la β- lactoglobulina), que administrada oralmente disminuyó significativamente los niveles de colesterol sérico total en animales modelo. Sin embargo, no se conoce con certeza cómo actúan estos, se cree como se mencionó anteriormente que disminuyen la solubilidad micelar del colesterol, es decir, reducen su absorción intestinal. Sin embargo, también se ha propuesto que induce la transcripción de la enzima colesterol-7-hidroxilasa, responsable de metabolizar el colesterol (Peighambardoust et al., 2021). Se ha obtenido distintos péptidos bioactivos hipocolesterolémicos, uno de ellos es el tetrapéptido HIRL (Yamauchi et al., 2003), este se encuentra en la proteína WDR61 del EDLc, otro péptido con la misma función es el tripéptido DPR, el cual se encuentra en el EDLc en las proteínas laminina B 1, N-acetilglucosamina-6-sulfatasa, coronina 6, y KASH5. En el año 2013, Zhang y colaboradores reportaron que el pentapéptido LPYPR aislado de la soya incrementó la concentración de la proteína LDL en circulación, induciendo el transporte de colesterol desde el hígado hacia otros tejidos. Este péptido se identificó en la proteína AP1B1 del EDLc. Una enzima clave en la biosíntesis de colesterol es la HMG-CoA reductasa, esta es el blanco de las estatinas (inhibidores del colesterol), el tetrapéptido LPYP se demostró que inhibe HMG-CoA reductasa (Lammi et al., 2015), este péptido se localizó en la proteína PIEZO1 del EDLc.

Actividad Antitrombótica

La trombosis consiste en la formación de coágulos que obstruyen el flujo sanguíneo ocasionando isquemia e infarto de órganos. En la trombosis arterial, la activación de plaquetas y lesiones de la pared del vaso son los factores preponderantes para la formación de trombos ricos en plaquetas, presentando manifestaciones a nivel cardiovascular y neurovascular. En la trombosis venosa, la estasis sanguínea y la consecuente activación de la coagulación, se consideran factores principales en la formación de trombos ricos en fibrina y hematíes (Raskob et al., 2014).

La búsqueda de nuevos agentes antiagregantes que inhiban la función plaquetaria es de fundamental importancia dado que existe un gran número de personas con padecimientos trombóticos. Se ha reportado que las proteínas del suero como algunas

caseínas liberan biopéptidos que inhiben la formación de trombos, así como también inhiben el factor dependiente de inhibición plaquetaria (Peighambardoust et al., 2021). Por ejemplo, la agregación plaquetaria puede ser inhibida por péptidos bioactivos, los cuales poseen estructura análoga con el fragmento 400-411 de la cadena g del fibrinógeno, de tal modo que estos inhiben la unión del fibrinógeno con su receptor plaquetario, resultando en el bloqueo de la formación del trombo (Carrasco y Guerra, 2010).

El tetrapéptido KRDS, aislado de lactoferrina humana, ha demostrado actividad antitrombótica (Drouet et al., 1990). Este péptido se encuentra en la estructura de la proteína EIF4G3 del EDLc. De igual forma, el tripéptido SQL aislado del ciempiés inhibe la agregación plaquetaria inducida por difosfato de adenosina, la trombina, la epinefrina y el colágeno, además disminuye la formación de trombos en un modelo de trombosis arterial inducida por cloruro férrico en ratas (Su et al., 2015). SQL lo poseen varias de las secuencias peptídicas que componen el EDLc, entre ellas: plastina 2, γ-enolasa, HNRNPH1, filamina A y B, histona H4 y talina 1. De igual modo, el tripéptido WGC ha sido aislado de *Scutellaria baicalensis Georgi* y ha mostrado poseer un efecto antitrombótico (Ku et al.,2014). También, se han reportado péptidos con actividad antiplaquetaria aislados de soya, estos inhiben la agregación plaquetaria en ratas inducida por el ADP, entre ellos, el tetrapéptido SSGE y DEE (Lee, 2005). El primero se encuentra en el EDLc en las proteínas HMOX1, mioferlina y GFAP, además, DEE se encuentra en diversas proteínas del EDLc, entre ellas: plastina 2, DDX39A, exportina 2, LRP1, MAT2A y KASH5.

Actividad hipotensora

El control de la presión arterial está asociado fuertemente con el sistema renina-angiotensina-aldosterona. Por lo que se ha convertido en un objetivo clave para la lucha contra la hipertensión. La hipertensión es un importante problema actual de salud, en todo el mundo constituye uno de los principales factores de riesgo asociados a diversas enfermedades cardiovasculares, tales como infarto al miocardio y la insuficiencia cardíaca. Los fármacos antihipertensivos convencionales poseen múltiples efectos secundarios adversos. Varias proteínas aparte de su papel nutricional contienen secuencias de péptidos capaces de regular rutas fisiológicas específicas (Borer, 2007). Se han encontrado algunos péptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), que, aunque tienen una menor actividad inhibidora *in vitro* respecto a los fármacos inhibidores de la ECA, no tienen los efectos secundarios dañinos, además de ser más económicos. Lo cual indica que los péptidos bioactivos inhibidores de la ECA se pueden utilizar como alternativas para modular la presión arterial. Actualmente, se han identificado y aislado diversos péptidos bioactivos de diferentes fuentes capaces de inhibir a la ECA (Petrillo y Ondetti, 1982). El tripéptido VAP obtenido de la proteína de la leche αs1-caseina posee esta actividad

(Maruyama et al.,1987), el EDLc contiene secuencias peptídicas con este péptido, entre ellas: platina 1, TER ATPasa, filamina A, DPYSL3, talina 1, ILF2, y aminopeptidasa A. Otro tripéptido bien caracterizado es IPP (isoleucina-prolina-prolina), este posee una IC50 de 9,0 µmol sobre la ECA (Ueno et al., 2004 y Nakamura et al., 1995). Este tripéptido se encuentra en el EDLc, es secuencias de las proteínas Hspa5, HSPA8, HSPA2, catepsina B y poliubiquitina C. Por otro lado, el tripéptido YGLF es aislado de la proteína α-La de bovino (Nurminen et al., 2000 y Mullally et al., 1996), y posee también un efecto hipotensor con un IC50 de 733 *µ*g/ml (94), este se encontró en la anexina A5, vinculina, filamina y talina 1 del EDLc.

Actividad inmunomoduladora

La actividad inmunomoduladora es de suma importancia ya que la salud está estrechamente correlacionada con la correcta modulación del sistema inmune. Actualmente, se ha documentado que diversos péptidos bioactivos son capaces de regular el funcionamiento del sistema inmune a distintos niveles, por ejemplo, estimulando la fagocitosis de los macrófagos o la proliferación de los linfocitos favoreciendo la eliminación de microorganismos causantes de enfermedades (Gill et al., 2000).

Se ha demostrado que varias proteínas lácteas modulan la proliferación de linfocitos *in vitro*, por ejemplo, la lactoferricina B promueve la actividad fagocítica de los neutrófilos humanos y pequeños péptidos derivados del extremo N-terminal de la α- lactalbúmina bovina aumentan significativamente la proliferación de linfocitos sanguíneos periféricos humanos. Sin embargo, el mecanismo por el cual estos péptidos ejercen su efecto inmunopotenciador no se conoce en la actualidad. Una posibilidad es que estos péptidos podrían interactuar con el tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal (Korhonen y Pihlanto, 2005 y Vinderola et al., 2008).

Los péptidos bioactivos derivados de alimentos con propiedades inmunomoduladoras más estudiados, son aquellos que proceden de la leche, de la jalea real, del arroz, de la soya, del trigo y del pimiento. También se han aislado péptidos que estimulan la proliferación de monocitos humanos y que en general, estimulan la inmunidad innata (Mulero-Cánovasa et al., 2011). Se ha sugerido que otros péptidos aminoran reacciones alérgicas, potencian la actividad de los linfocitos y mejoran la respuesta inmune contra microorganismos como *Klebsiella pneumoniae* (Peighambardoust et al., 2021). También otros son capaces de disminuir la expresión de citocinas proinflamatorias tales como: MAPK, NF-kB, COX2 y RAS, así como incrementar TGF-β e IL-10, resultando en un efecto antiinflamatorio (Chakrabarti, 2014).

Distintos péptidos bioactivos han sido reportados con actividad antiinflamatoria, entre ellos se destacan cuatro péptidos aislados de ciervo *Cervus elaphus Linnaeus* (Lassoued

et al., 2015). El primero es el dipéptido VH, del cual identificamos 257 repetidos en las proteínas que contiene el EDLc, entre ellas: SPTAN1, HSPA2, TIM, vinculina, espectrina y glutatión reductasa. El segundo péptido es el tripéptido LAN, el cual lo identificamos en 33 repetidos en distintas proteínas del EDLc, entre ellas: espectrina 1, vinculina, talina 1, GNPDA1, DDB1, importina 1, catepsina B y prostaglandina E sintasa. Por otro lado, los péptidos bioactivos IRW e IQW obtenidos de la ovotransferrina, reducen la expresión de ICAM-1/VCAM-1, los cuales son esenciales en el anclaje y extravasación de leucocitos y promueven la regulación negativa de la expresión de proteínas inflamatoria inducidas por citoquinas en el endotelio vascular a través de la modulación de la vía NF-κB (Majumder et al., 2013). IRW se localiza en la proteína aconitato hidratasa del EDLc e IQW en LRP1, transgelina 6 y MACF1.

Otros tripéptidos mencionados anteriormente caracterizados como antihipertensivos son VPP (disminuye el reclutamiento de leucocitos y modula la adhesión de monocitos al endotelio vascular) e IPP (antiinflamatorio), también han mostrado ser mediadores antiinflamatorios (Chatterton et al., 2013). Estos se identificaron en distintas secuencias del EDLc como se mostró con anterioridad.

Otros péptidos bioactivos han demostrado ser fundamentales en el control de los niveles de citocinas o quimiocinas, la reducción del estrés oxidativo y la reversión del daño tisular observado en modelos animales de colitis, lo que sugiere posibles aplicaciones en el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales. Uno de estos es el tripéptido VPY (Kovacs-Nolan et al., 2012), el cual se encuentra en la aminopeptidasa, PTK, UBA1, ERCC8, peregrina y MACF1 del EDLc.

Por otro lado, el tetrapéptido FELL fue aislado de la proteína CABS1 de humano (Laurent et al., 2015), el cual previene la acumulación de neutrófilos en el líquido broncoalveolar, este péptido lo identificamos en las proteínas SNRPD1, aminopeptidasa B y ANP32E del EDLc. Y finalmente, el tripéptido GLF que ha sido reportado como un potente inmunomodulador (Kamau, 2010), lo encontramos en la enolasa 1, Rab GDP, talina 1, ILF2, DDB1, peroxiredoxina 1 y ALDH9A1.

Actividad Anticancerígena

Se ha sugerido que algunos péptidos de la soya evitan que las células cancerosas absorban los compuestos necesarios para su proliferación y, además, evitan la acetilación de las histonas, impidiendo su alta tasa de proliferación. Algunos péptidos fosforilados obtenidos de las caseínas (caseinofosfopéptidos) tienen la capacidad de enlazar cationes como zinc, calcio o hierro haciéndolos más estables en diferentes condiciones fisicoquímicas, lo que facilita su absorción intestinal. En otro estudio se observó que el concentrado de péptidos de proteína láctea causaba apoptosis (muerte celular programada) de las células

cancerosas (HT-29) presentes en el colon (Seber et al., 2012, Peighambardoust et al., 2021).

Por otro lado, el pentapéptido YIGSR fue identificado por Iwamoto y colaboradores en 1987, el cual es capaz de inhibir el crecimiento tumoral, la metástasis e inducir la apoptosis. De manera interesante, YIGSR está contenido en la proteína laminina- Beta-1 del EDLc. Cuatro péptidos bioactivos FHG, GFHI, DFHING, y GLSDGEWQ obtenidos de la carne bovina poseen actividad citotóxica y antiproliferativo sobre la línea celular de cáncer de mama MCF-7 (Jang et al., 2008). Interesantemente, el primero lo identificamos en distintas proteínas del EDLc, tales como: plastina 2, PTK, HCII y PSMB1.

De la misma forma, se ha encontrado que el tripéptido KLH de la hemocianina de lapa californiana, posee distintas propiedades incluida la actividad inmunoestimuladora, antitumoral y antimicrobiana (Harris y Markl, 2000). Particularmente, el tripéptido inhibe significativamente el crecimiento de diferentes células cancerosas *in vitro*, entre ellas: células de cáncer de mama dependientes de estrógenos (MCF-7), cáncer de mama independiente de estrógenos (ZR75-1), células de cáncer de páncreas (PANC-1), células de cáncer de próstata (DU145) y células de adenocarcinoma de esófago de Barrett (SEG-1 y BIC-1) (Riggs et al., 2002 y McFadden et al., 2003).

Además, un análisis de citocinas reveló que KLH afecta directamente la producción de mediadores inflamatorios y proapoptóticos celulares. También, KLH aumenta la actividad apoptótica temprana en células MCF-7, (Lamm et al., 1993 y Riggs et al., 2002). Este tripéptido se encuentra en distintas proteínas del EDLc, como espectrina 1, vimentina 1, coronina 1 y 6, ACADVL, metanotiol oxidasa, MACF1, y VPS13.

EXTRACTO DIALIZABLE DE LEUCOCITOS (EDL) Y SUS EFECTOS EN DISTINTAS PATOLOGÍAS

El EDL fue descubierto en 1954, aunque se empezó a utilizar con fines terapéuticos hasta fines de los sesentas y principios de los setentas. Sin embargo, hasta hace menos de dos décadas, a pesar de sus beneficios, no se había podido demostrar su identidad química claramente y no se habían estudiado patologías específicas de manera reproducible en modelos celulares o animales en los que se pudieran demostrar sus efectos.

Los primeros artículos sobre el EDL, antes llamado factor de transferencia, llegaron a México en 1983 cuando el doctor Sergio Estrada Parra comenzó a divulgarlos entre la comunidad médica. En ellos se describía un tratamiento muy eficaz para candidiasis mucocutánea grave y coccidiodomicosis diseminada, empleando factor de transferencia. Cabe mencionar que se le nombró así, porque históricamente se pensaba que era una molécula de bajo peso molecular y que era capaz de transferir inmunidad de un organismo que presentaba una respuesta inmune protectora a un organismo susceptible no expuesto previamente al patógeno. Sin embargo, se desconocía totalmente su composición.

En México el Instituto de Enfermedades Tropicales y muy particularmente el doctor Oscar Velasco Castrejón era el encargado de la investigación y tratamiento de este tipo de enfermedades (Candidiasis mucocutánea grave y coccidiodomicosis diseminada), las cuales eran consideradas raras y muy pocos médicos sabían tratarlas. Velasco fue un pionero en nuevos tratamientos, traducidos en efectos muy benéficos para los pacientes más complicados. Es así, que el Estrada le propone a Velasco utilizar el “factor de transferencia” en sus pacientes más graves. Velasco realizó un estudio de 35 pacientes con coccidioidomicosis crónica, encontrando que 32 de ellos tuvieron una evidente mejoría tanto clínica, como en sus parámetros inmunológicos, elevando el porcentaje de linfocitos T y haciéndose positivos a la coccidioidina (Velasco et al., 1974).

En 1980, Dos Reis y colaboradores trataron con factor de transferencia a un paciente con Leishmaniasis cutánea difusa, observando mejoría clínica evidente y normalización de la cuenta de linfocitos T. Posteriormente, en 1983 aplicando el “factor de transferencia” en pacientes tuberculosis pulmonar avanzada reportó una mejoría clínica muy clara, observando inclusive una mejoría en algunas de las imágenes radiológicas pulmonares (Estrada- Parra et al., 1983).

En 1985, analizaron más de 100 pacientes con herpes zoster postratamiento con el ahora llamado EDL y observaron una mejoría y rápida evolución del cuadro clínico, con un mínimo de secuelas, disminución del dolor e involución de las lesiones después de las primeras 24 horas, teniendo franca mejoría después de las 48 h. (Cabezas et al., 1990).

En 1990 se demostró uno de los posibles mecanismos de acción del efecto clínico del EDL en pacientes infectados con Herpes zoster, al comprobar el aumento en los niveles de INF-γ y en la cuenta de linfocitos T-CD4 (Cabezas, et al., 1990).

De manera paralela, en un estudio en pacientes asmáticos, realizado con el Centro de investigaciones Médico-Quirúrgicas (CIMEQ) en la Habana de Cuba, se observó que, de un total de 250 pacientes, los cuales tenían en promedio 7 crisis asmáticas por mes, un 60% de ellos dejó de presentar crisis asmáticas, 23% disminuyeron a 2 crisis asmáticas por mes y el 17% aunque no disminuyeron sus crisis, estas fueron más tenues y manejables. Lo anterior fue estrechamente correlacionado con la disminución de las concentraciones de IgE (Cabezas et al., 1988).

A partir de este estudio y con la finalidad de implementar una planta para la obtención y producción del EDL de manera farmacéutica en México, Estrada tomo la iniciativa para dirigir el proyecto en el Instituto Politécnico Nacional con la colaboración del QBP Carlos Adolfo Pérez de la Mora, quien por su amplia experiencia en producción de biológicos aportó los conocimientos necesarios para formular, dosificar, concentrar y liofilizar el EDL en condiciones farmacéuticas apropiadas. Con dicho proceso se logró por primera vez, conservar los péptidos del EDL en un ambiente estable y de fácil manejo, lo cual permitió que se pudiera estudiar de manera sistemática. El proceso de producción fue patentado y la aportación acreedora del Premio Nacional a la Investigación Politécnica en 1991.

A partir de este desarrollo se iniciaron en México varios grupos de investigación en torno al EDL dentro y fuera del Instituto Politécnico Nacional, los cuales han publicado sus hallazgos en diversas patologías.

Pineda y colaboradores en el 2005 observaron una reducción significativa de los tumores en gliomas malignos en ratas, además del aumento de linfocitos CD2+, CD4+, CD8+ y células NK. Sin embargo, debido a la complejidad en la composición del biológico, y a la ausencia de datos concluyentes sobre los mecanismos de acción a nivel molecular, el uso generalizado del EDL en pacientes con cáncer, se ha visto limitado. Recientemente, diversos grupos han realizado protocolos de investigación para determinar los efectos biológicos del EDL en células cancerígenas y determinar su papel coadyuvante en el control neoplásico, junto con los inductores apoptóticos. Lo anterior con la finalidad de activar una respuesta inmunitaria contra las células cancerosas (Martínez-Torres et al., 2020).

El doctor Fudenberg en 1976 describió como el EDL incrementaba la citotoxicidad mediada por células en osteosarcoma. En tanto, el grupo del doctor Pizza, trataron con EDL un grupo de pacientes con cáncer de próstata que no respondían adecuadamente a las terapias convencionales, obteniendo mejoría considerable en el 44% de ellos. Asimismo, este grupo llevó a cabo un estudio con noventa y nueve pacientes con cáncer de pulmón de

células pequeñas, reportando un aumento importante en la sobrevivencia postratamiento con EDL ($p<0.02$) en comparación con aquellos que no lo recibieron (Pizza et al., 1996).

Otros estudios han utilizado el EDL en la práctica clínica desde hace más de 25 años, 439 pacientes con infecciones virales, 643 con cáncer, 287 con lesiones fúngicas, 74 con síndrome de fatiga crónica, 51 pacientes con SIDA y 153 con enfermedades autoinmunes, cuyos resultados en mayor o menor grado se reportan satisfactorios a nivel clínico, aunque es importante mencionar que algunos de dichos estudios adolecen de ser estudios bien controlados que permitan obtener conclusiones robustas. Un número importante de estudios en pacientes con cáncer que recibieron un tratamiento con quimioterapia convencional, y el EDL como adyuvante sugieren que aumenta la eficacia y la tolerabilidad a la radio y la quimioterapia, observando que el número de complicaciones fue significativamente menor. En la siguiente tabla se enlistan algunos de los estudios publicados del uso del EDL en diversas enfermedades, así como los efectos principales observados (Krishnaveni et al., 2013).

Enfermedad	Efectos	Referencias
Osteosarcoma, varicela y herpessimplex	Incremento de la citotoxicidad mediada por células. Mejoría de la función de las células T	Fudenberg, 1976, Steele et al., 1980, Steele et al., 1976, y Viza et al., 1986
Síndrome de Wiskott	Los niveles de C3 regresan a la normalidad, no hay infecciones nuevas, ausencia de eczema	Levin et al., 1970
Glioma	Se reduce el tamaño del tumor, aumenta las cuentas de células apoptóticas: CD2+, CD4+, CD8+y células NK	Pineda et al., 2005
Cáncer de próstata	Aumenta la expectativa de vida	Pizza et al.,1996
VIH	Aumenta la cuenta de células T cooperadoras y T citotóxicas	Raise et al., 1996
Cáncer de pulmón	Mayor sobrevivencia	Pilotti et al., 1996
Hepatitis C	Estimula las células Th1, que ayuda a eliminar partículas virales	Milich et al., 1998 y Masi et al., 1996
Candidiasis mucocutánea crónica	Restaura la inmunidad celular	Tsai et al., 1997

Tabla I. Publicaciones en donde se ha empleado el EDL como adyuvante en diversas patologías (Krishnaveni et al., 2013).

En el año 2007 nuestro grupo de investigación dirigido por el doctor Pérez-Ishiwara, inició la investigación sistemática del FACTRAN enfocando los estudios particularmente a la caracterización de sus componentes y a la determinación de los mecanismos de acción en distintos modelos animales e *in vitro* con la finalidad de comprobar los efectos terapéuticos que los médicos habían observado a lo largo de 20 años de su uso.

Actualmente, como ya se muestra en el capítulo IV, hemos caracterizado mediante estudios de proteómica la composición del EDLc y se han realizado diversos estudios a nivel molecular en diferentes modelos de enfermedad, evidenciando su actividad antiinflamatoria como principal eje de su efecto terapéutico (ver capítulos V-VII).

En el 2016 se realizaron investigaciones para demostrar el efecto antiinflamatorio en un modelo de ratas a las que se les generó artrosis mediante un procedimiento quirúrgico. Los análisis de la expresión de citocinas por RT-MPCR mostraron la sobreexpresión del factor de crecimiento derivado de plaquetas, del interferón-□ y del factor de crecimiento de fibroblastos en comparación con las ratas con artrosis sin tratamiento. La expresión de dichas citocinas antiinflamatorias pone en evidencia el efecto benéfico del EDLc en padecimientos en donde la inflamación juega un papel crucial para el desarrollo patológico de la misma (Acosta et al., 2016).

En un modelo murino de prostatitis crónica/ síndrome de dolor pélvico, se demostró que el tratamiento con EDLc produce una disminución de la expresión del marcador de la superficie CD45 y de las citocinas proinflamatorias TNF-a, INF-y, IL-6 e IL-7, con lo cual se demuestra la modulación los efectos patológicos de la prostatitis autoinmune experimental (Pérez-Alvarado et al., 2017).

Reciente en un estudio clínico se evidenció la actividad antiinflamatoria del EDLc en pacientes con lesiones premalignas generadas por el virus del papiloma humano. Se observaron cambios clínicos, histopatológicos e inmunoquímicos inducidos por el tratamiento con EDLc, aminorando la cervicitis crónica asociada a la infección por VPH.

En dicho estudio, cincuenta y cuatro pacientes mexicanas con cervicitis crónica asociada a VPH se dividieron en dos grupos: i) pacientes tratadas con placebo y ii) pacientes tratadas con EDLc. Después de las evaluaciones y análisis inmunoquímicos correspondientes se observó que en 89% de las pacientes tratadas con EDLc las manifestaciones colposcópicas disminuyeron, mostraron un infiltrado leucocitario decreciente y una mayor expresión de TGF-β, mientras que la expresión de INF-y, PCNA e IL-32 disminuyeron. El estudio sugiere que la inmunidad innata de la mucosa cervical de los pacientes se ve favorecida por el tratamiento con el EDLc (Acosta et al., 2017).

Recientemente, en un modelo murino de influenza A, explorando otras fuentes de obtención de EDL, reportamos que el EDL obtenido del tejido linfoide del cerdo (EDLp),

mejora los signos clínicos, disminuye la neumonitis y la fibrosis pulmonar por la disminución de colágena, además hay disminución de la IL-1β e IL-6, modulando la respuesta inmune exacerbada y la inflamación (Pérez et al., 2022)

Desde sus inicios se ha asociado el uso del EDLc a un efecto terapéutico para diversas neoplasias, en un estudio *in vitro* en células con cáncer de mama expuestas a radioterapia de 60 Co (2.66 Gys) en combinación con el extracto EDLc, se observó la mayor expresión de TNF-α en estas células en comparación con las que no se trataron con EDLc, lo que propone un aumento de la respuesta proapoptótica, es decir, se volvieron más sensibles a la radiación. (Pérez Elvia, comunicación personal).

Los beneficios del EDL se siguen documentando en todo el mundo, muy recientemente se ha observado el aumento de la actividad fagocítica de los macrófagos en un modelo de peritonitis en ratas Wistar, el cual indica que el EDL podría tener un papel como tratamiento inmunomodulador para dicha enfermedad (Habar et al., 2021).

En conclusión, el uso del EDL ha mostrado su utilidad y fundamentos científicos para ser utilizado en diversas patologías como coadyuvante inmunológico, debido a su capacidad para modular la respuesta inmune innata, particularmente modulando la respuesta inflamatoria, así como inducir la expresión de ciertos mediadores que participan en la respuesta inmune adquirida. Su seguridad ha sido evaluada en ensayos clínicos y de vigilancia activa en pacientes, encontrando que no existen efectos adversos asociados a este tratamiento (Barrios et al., 2006).

Además, se ha demostrado que su administración a largo plazo es conveniente, segura y bien asimilada en niños y en personas mayores que tienen riesgo de desarrollar diversos tipos de infecciones o bien alteraciones inmunológicas como alergias y asma (Pizza et al., 1996, Jones et al., 1981).

PROCESOS BIOLÓGICOS CELULARES Y MOLECULARES ESENCIALES PARA LA VIDA Y SU ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO

En los organismos superiores existen varios niveles de organización biológica desde el nivel atómico hasta la conformación de un organismo completo (**Fig. 2**). Toda la materia está conformada por átomos, estos a su vez se unen formando compuestos y macromoléculas más complejas como el ADN, lípidos, carbohidratos y proteínas. Estas macromoléculas son constituyentes de orgánulos y estos a su vez, conforman a la célula, las células se agrupan entre sí formando tejidos, los cuales se unen entre sí para realizar una función en común como el tejido epitelial o muscular. Diferentes tejidos integran órganos que son estructuras más complejas y que efectúan funciones esenciales para la supervivencia del organismo. Por ejemplo, el corazón, los pulmones, los riñones o el cerebro (Brooks, 2021).

Para entender la función de un organismo completo, es fundamental conocer la estructura y función de la célula, debido a que son la unidad fundamental o esencial que conforman a todos los seres vivos, de tal modo que las macromoléculas juegan un papel esencial en la organización y función de esta, siendo las proteínas una de las principales macromoléculas que ejecutan funciones vitales en las células (Koolman, 2012).

Las proteínas representan alrededor del 50% del peso seco de los tejidos y son imprescindibles para el crecimiento del organismo, llevando a cabo una enorme cantidad de funciones diferentes, entre las que destacan: las estructurales (colágena), las que participan en la motilidad (actina y miosina en la contracción muscular), en el transporte de sustancias en los fluidos corporales (hemoglobina, transferrina, ceruloplasmina, etc.), los biocatalizadores de numerosas reacciones biológicas (enzimas), y de manera importante las que participan en la regulación del sistema inmune (inmunoglobulinas y citocinas) y aquellas que actúan como reguladores en numerosos procesos de crecimiento, desarrollo y diferenciación celular (factores de crecimiento, factores de transcripción, etc.) entre otras (Khan et al., 2017). De igual modo, las proteínas son relevantes en un organismo ya que la perdida de función conduce a diversas patologías (Alberts et al., 2016).

En la actualidad, existen diversas herramientas bioinformáticas que permiten predecir las propiedades fisicoquímicas de las proteínas, así como su estructura y como un conjunto de estas pueden interactuar entre sí bajo un umbral de probabilidad aceptada (interactómica).

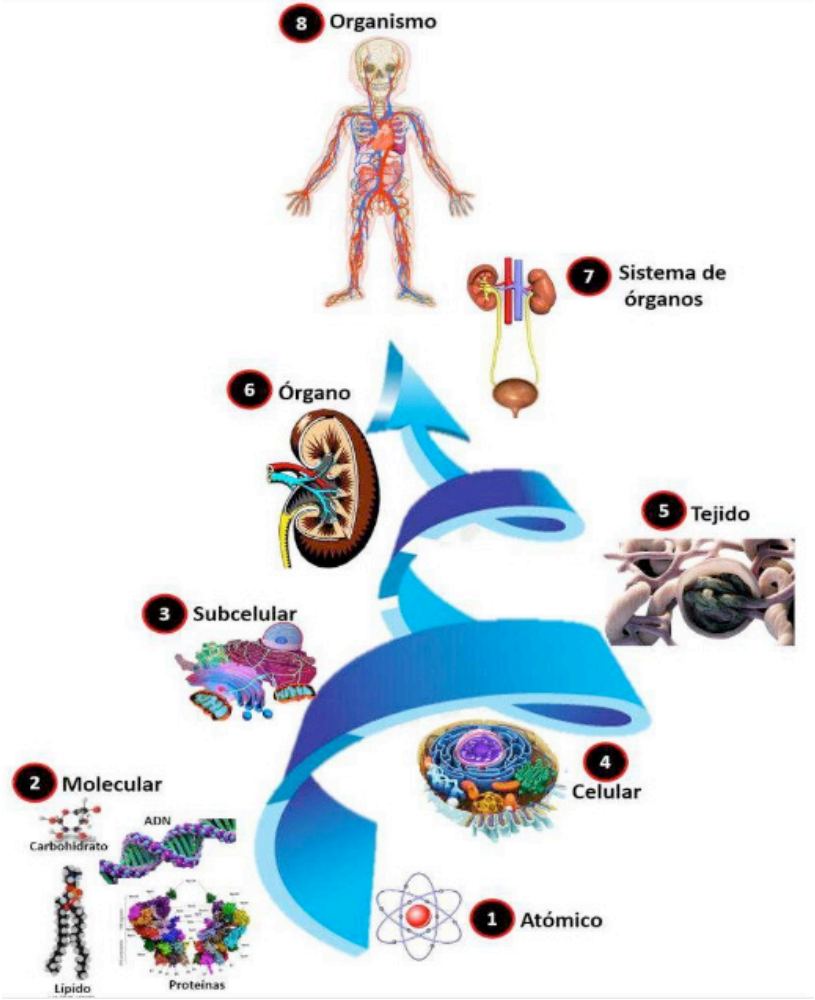

Figura 2. Niveles de organización de los seres vivos.

EL PROTEOMA, DEFINICIÓN, FUNDAMENTOS, IMPORTANCIA Y ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO

El “proteoma” se puede definir como el contenido total de proteínas de una célula o de una fracción de ella y su composición depende de su origen, de las interacciones celulares e intermoleculares, de las modificaciones postraduccionales y de la abundancia de cada una de las proteínas en un momento determinado. El proteoma puede variar con el tiempo, con los cambios ambientales, o debido al estrés que sufre una célula o un organismo en particular (Müller, et al., 2020).

El estudio y comparación sistemáticos del proteoma en diferentes situaciones metabólicas o patológicas permite identificar aquellas proteínas cuya presencia, ausencia

o alteración se correlaciona con determinados estadios fisiológicos. Como sabemos, las proteínas son las principales moléculas efectoras de la función biológica y su abundancia no solo depende de los niveles de ARNm, sino también del control y regulación de la traducción de la célula. Por lo tanto, la proteómica se considera en su conjunto como una de las informaciones más relevantes para caracterizar un sistema biológico (Aslam et al., 2017). Por ello, es sumamente importante la aplicación de esta tecnología con el fin de obtener mecanismos moleculares ejercidos por EDL y su correlación con los efectos biológicos e inmunológicos observados en la clínica. Además, la información proporcionada por la proteómica permite tener un conocimiento amplio, dando la pauta a evaluar distintas patologías en modelos animales (Monti et al., 2005).

Motivo por el cual retomando diversas investigaciones de diferentes grupos en el mundo y de las investigaciones propias de nuestro grupo realizadas con el EDLc y su análisis OMICO nos enfocamos en la capacidad del EDLc para modular, interactuar y modificar distintas rutas moleculares en la célula, poniendo particular énfasis en aquellas que cuentan con evidencia experimental y relacionadas al efecto inmunomodulador y regulador genético de diversos procesos que están desregulados en el binomio salud-enfermedad.

PROTEÓMICA DEL EDLC

Con la finalidad de estudiar a detalle la relación estructura-función y la caracterización de posibles péptidos bioactivos presentes en el EDLc desarrollado por la empresa Farmainmune, iniciamos el análisis proteómico mediante electroforesis bidimensional en el equipo de isoelectroenfoque Ethan II. Se detectaron al menos 80 spots principales en rangos de peso molecular de entre 38 y 6 KDa al emplear una tinción con Coomassie/plata (**Fig. 3).**

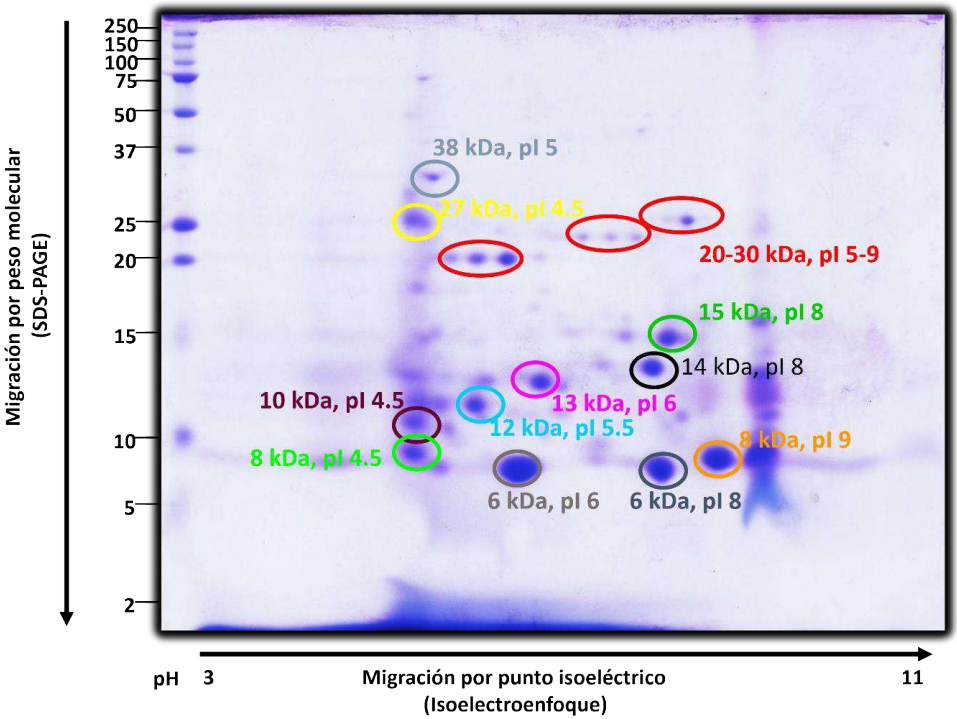

Figura 3. Análisis proteómico. Los círculos muestran a las proteínas principales del EDLc.

La primera interpretación de este resultado refutaba de golpe la antigua aseveración de que el factor de transferencia es una mezcla de un número reducido de secuencias cortas de aminoácidos menores a 5 KDa (Kirkpatrick, 1993).

En un gel bidimensional cada spot corresponde a una proteína o un péptido con peso molecular y punto isoeléctrico característico, lo que indicaba que la cantidad de péptidos superaba con mucho la hipótesis que por décadas permaneció vigente. Es importante mencionar que este tipo de análisis por isoelectroenfoque requeriría de la secuenciación aminoacídica por espectrometría de masas de cada spot de manera individual, lo cual

hacía del estudio un proceso costoso y en el cual muy probablemente se perderían todas aquellas secuencias poco representadas, pero no menos importantes, en el EDLc. Por lo tanto, teniendo como premisa que muchos de los péptidos biológicamente relevantes pueden ser aquellos que se encuentran pobremente representados en el proteoma. Se realizó el análisis mediante la técnica MALDI TOF-TOF.

Después de haber analizado el proteoma completo mediante el análisis bioinformático, se identificaron cerca de 300 péptidos, desde aquellos mayoritariamente representados y otros con mínima abundancia en el EDLc. El resultado obtenido mostró que el anteriormente llamado factor de transferencia es una mezcla altamente compleja de péptidos de diversa naturaleza que corresponden a una amplia variedad de proteínas con funciones estructurales, metabólicas, y reguladoras de una gran variedad de procesos celulares que, si bien es fundamental conocer y que a la fecha no se tiene reporte de un estudio de proteómica similar, su conocimiento carece de importancia práctica y médica si no somos capaces de definir y asociar las rutas metabólicas en las que participa, poniendo especial énfasis en aquellas rutas que experimentalmente algunos grupos en el mundo que hemos demostrado que el EDLc es capaz de modular funciones fisiológicas y favorecer la coadyuvancia o resolución de padecimientos específicos. De manera similar a lo presentado por nuestro grupo, en el proceso de escritura de este libro se publicó la secuenciación del proteoma del transferon, coincidiendo que uno de los péptidos encontrados corresponde a la ubiquitina, entre algunos otros péptidos.

Es fundamentar entender que la tecnología de MALDI TOF-TOF es altamente sensible, específica y resolutiva, mientras que los métodos previamente empleados no tienen estas ventajas. Como mencionamos anteriormente, el conocer la secuencia específica de los péptidos constituyentes del EDLc no tiene ningún significado biológico, si no se estudia en el contexto de las moléculas bioactivas que pudiera contener y de la función de estas. Motivo por el cual iniciamos una investigación y análisis profundo para agrupar en primera instancia por función los diversos péptidos identificados, para posteriormente realizar interactomas que nos permitan definir las vías moleculares en las que los péptidos bioactivos del EDLc pudieran modular.

ANÁLISIS ÓMICO, MECANISMOS DE ACCIÓN Y BENEFICIOS PARA LA SALUD DEL EDLC

La estrategia general (**Fig. 4**) para el análisis bioinformático se realizó con base a los resultados obtenidos en la proteómica del EDLc. Mediante proteómica se lograron identificar los distintos péptidos pertenecientes a las proteínas que conforman al EDLc. Los resultados generados proporcionan un número de acceso o ID que nos permite obtener el nombre e información de la proteína identificada en las bases de datos Protein Data Bank (https://www.rcsb.org/) y UniProt (https://www.uniprot.org/). Con los IDs de las proteínas del EDLc se realizaron distintos interactomas con el fin de proponer las vías moleculares que el EDLc potencialmente pudiera modular distintos eventos celulares desregulados en los estados patológicos.

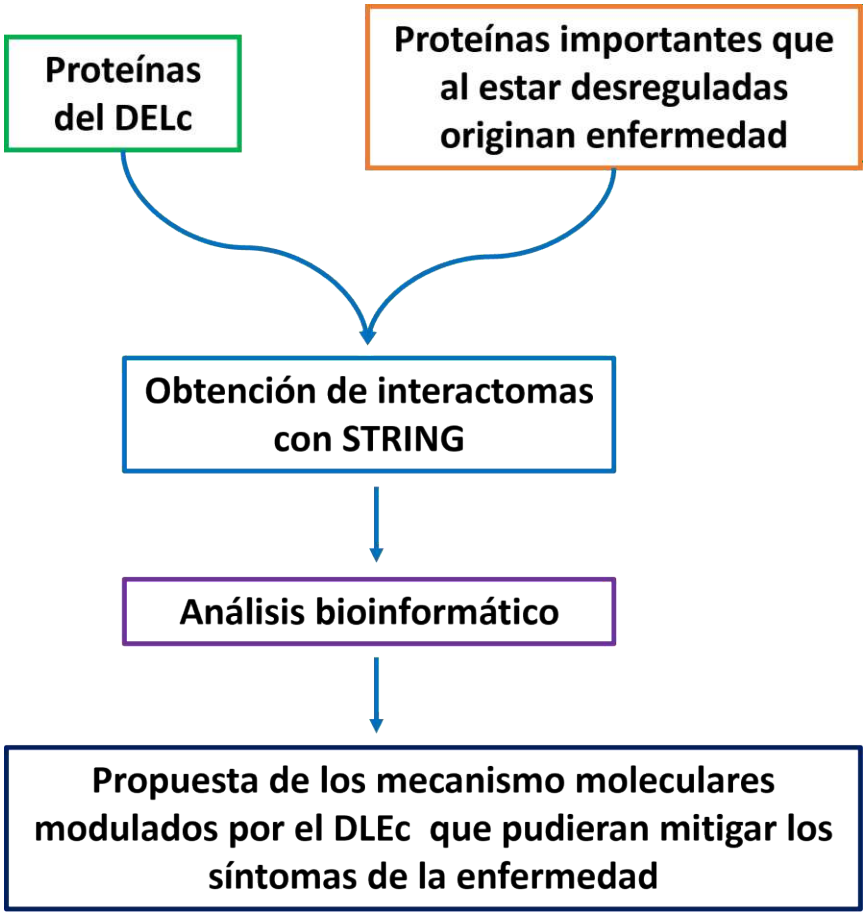

Figura 4. Metodología general para el análisis bioinformático de las posibles funciones del EDLc sobre distintas vías moleculares.

Utilizando STRING logramos obtener una interactoma general de las proteínas del EDLc, las cuales fueron agrupadas de acuerdo con sus funciones biológicas (**Fig. 5**). El resultado obtenido muestra proteínas del EDLc que participan en procesos cruciales para la supervivencia celular como son las proteínas con funciones señalizadoras, reguladoras de la expresión génica, secreción, de choque térmico o de respuesta a diferentes tipos de estrés y de degradación de proteínas, principalmente.

Las proteínas identificadas corresponden mayoritariamente a proteínas reguladoras de la expresión génica (51%), seguido de proteínas reguladoras (11%), de degradación (10%), secreción (10%), choque térmico (7%) y en menor proporción las que participan en el sistema inmune (4%) (**Fig. 6**).

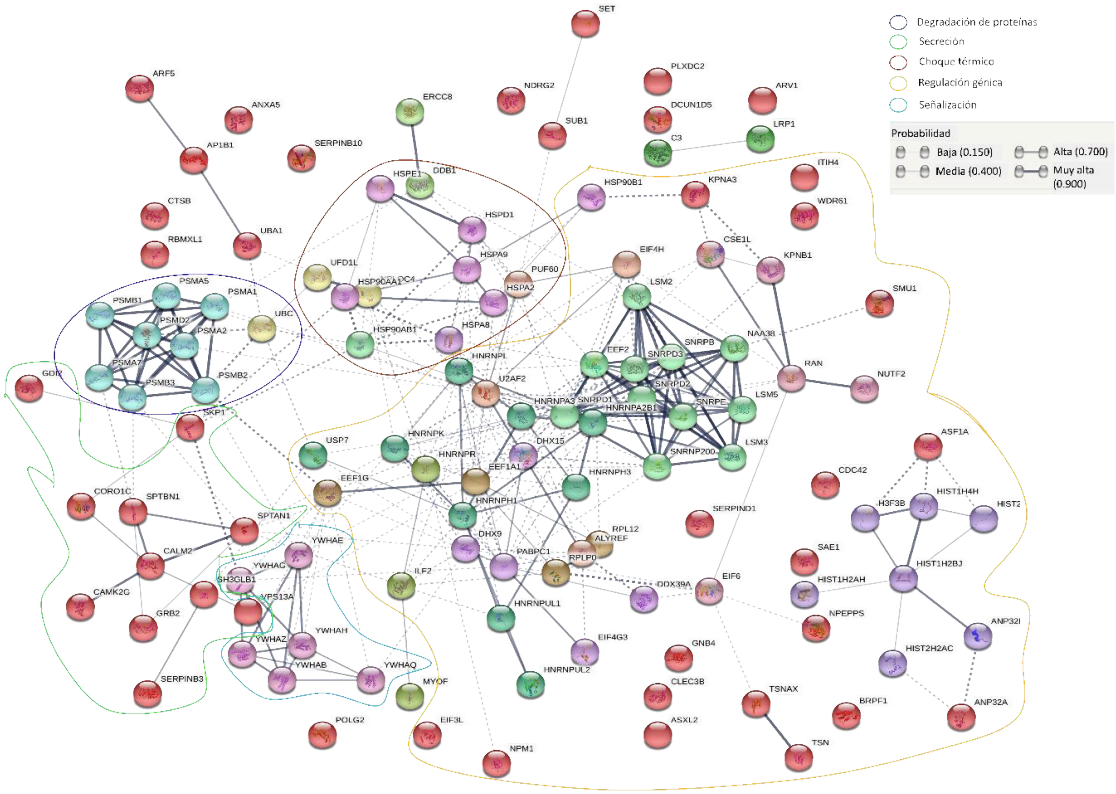

Figura 5. Interactoma general del EDLc. Las agrupaciones corresponden a proteínas con funciones similares.

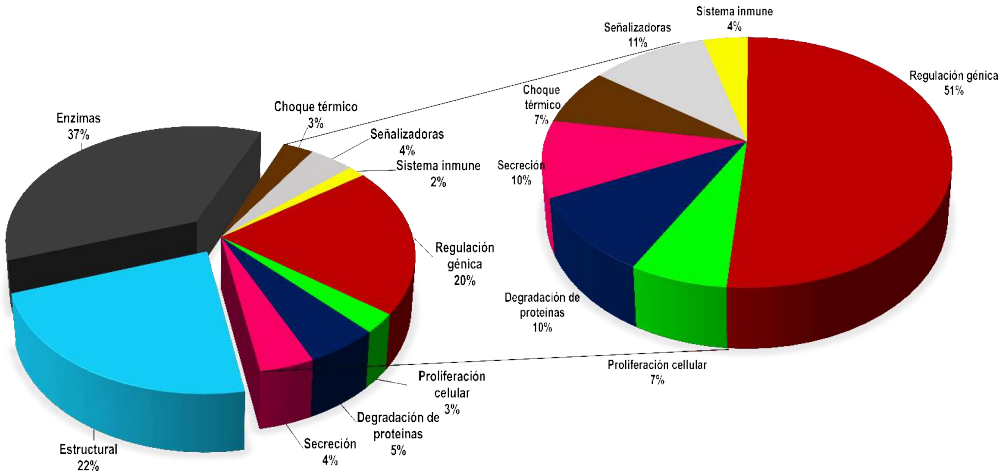

Figura 6. Cuantificación porcentual de las proteínas del EDLc de acuerdo con su función en distintos procesos celulares.

En primera instancia nos enfocamos a analizar aquellas secuencias que de acuerdo con distintos reportes en la literatura tuvieran péptidos bioactivos con posible función inmunomoduladora. Dichas proteínas que corresponden al 4% de todos los péptidos encontrados fueron ITIH4, ANXA5, SERPINB1, SERPINB3 y C3). El análisis de estas proteínas del EDLc sugiere que potencialmente pueden interactuar entre ITIH4, SERPINB1 y C3, esta última, con SERPINB3, mientras que ANXA5 no está involucrada. De igual modo, estas proteínas fueron retadas independientemente en la plataforma con el proteoma del humano con el fin de evaluar si estas proteínas del EDLc son capaces de interactuar con proteínas moduladoras del sistema inmune (**Fig. 7**).

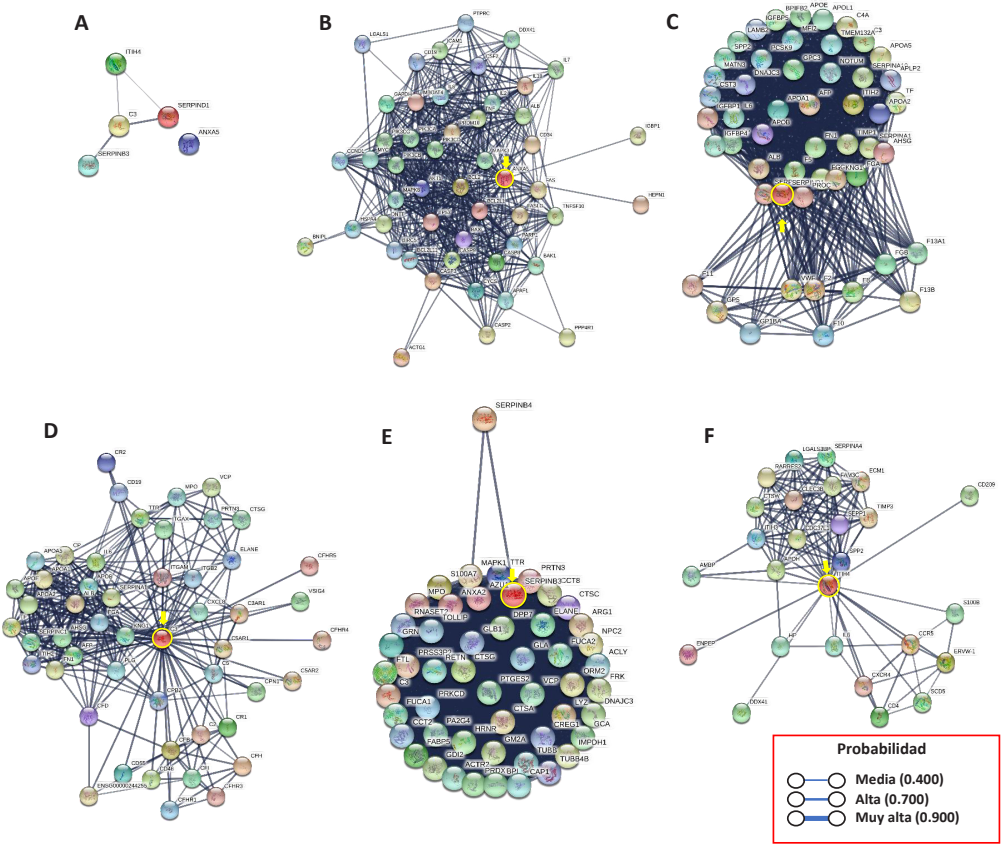

Figura 7. Interactoma de las proteínas del EDLc. **A**) Interacción con las cinco proteínas del EDLc relacionas al sistema inmune, e interacción con el proteoma del humano de:

B) ANXA5, **C)** SERPINB1, **D)** C3, **E)** SERPINB3 y **F)** ITIH4. Los círculos y flechas de color amarillo indican la proteína del EDLc.

Los análisis interactómicos de estas 5 proteínas mostraron que son capaces de interactuar con proteínas del humano involucradas principalmente con proteínas del sistema inmune (59%), ciclo celular o proliferación celular (23%), apoptosis (15%) y en menor porcentaje, con proteínas reguladoras maestras (3%) (**Fig. 8**).

Con base a estos análisis, los resultados sugieren que las proteínas contenidas en el EDLc pueden ejercer un efecto modulador del sistema inmune y algunos otros procesos biológicos esenciales para la célula.

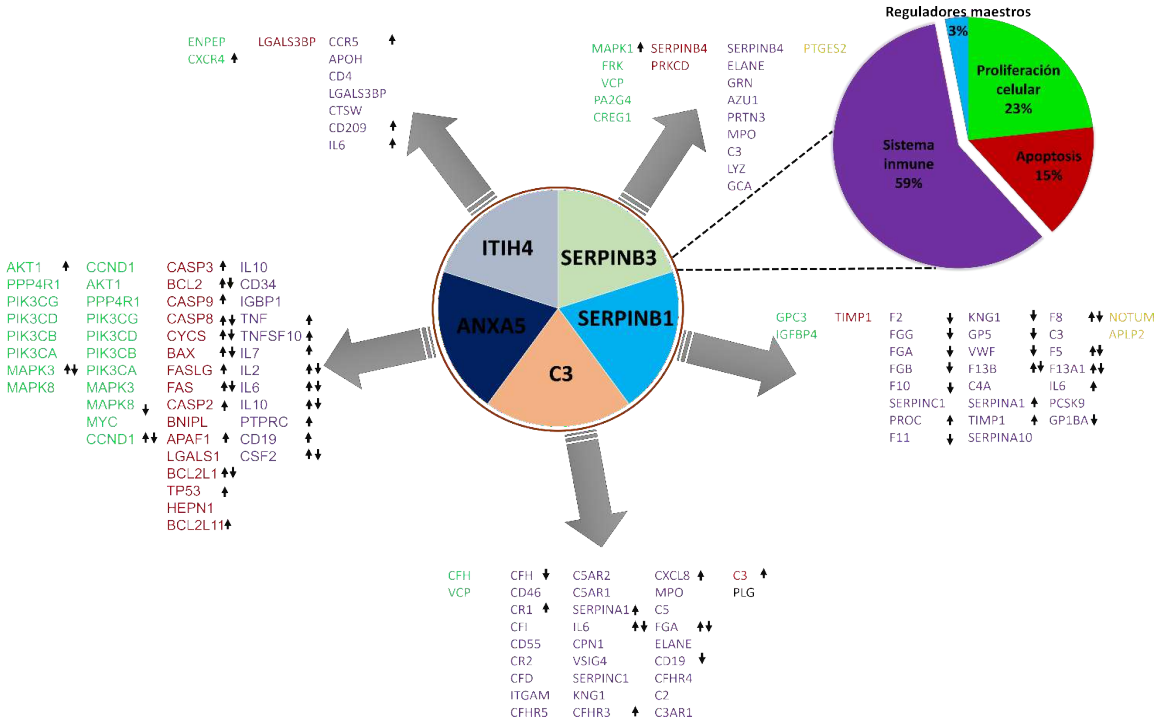

Figura 8. Proteínas del EDLc y su posible participación como moduladoras del sistema inmune (color morado), proliferación (color verde), apoptosis (color rojo) y reguladores maestros (color azul). La flecha hacia arriba indican activación, hacia abajo indica inhibición y las proteínas que presentan ambas, señalan que pueden modular la actividad en ambos sentidos, de acuerdo con el microambiente celular.

EDLC COMO INMUNOMODULADOR DEL SISTEMA INMUNE

Las moléculas inmunomoduladores tienen la capacidad de regular la respuesta inmune por un proceso de estimulación o supresión de esta, dentro de las cuales, a los inmunopotenciadores se les atribuyen funciones importantes en las inmunodeficiencias de algunos tipos de infecciones virales y bacterianas, y en especial en el tratamiento del cáncer (Kim et al., 2022).

Los inmunomoduladores actúan en diferentes niveles del sistema inmune con la finalidad de inhibir o activar selectivamente poblaciones o subpoblaciones de células para la respuesta inmune como linfocitos, macrófagos, neutrófilos, células asesinas NK y citotóxicas, o bien, la producción de mediadores solubles como las citoquinas. Dentro de las moléculas inmunomoduladoras se encuentra las citocinas como la IL-1, INF g, IL-2, IL-5, IL-12, FNTa, IL-18 y GM-CSF, estas pueden actúan directa o indirectamente, siendo capaces de modular la respuesta inmune humoral y celular. Los inmunomoduladores son utilizados frecuentemente como terapia para inmunodeficiencias, cáncer, hepatitis y en la

recuperación hematopoyética (Nicholas y Lesinski, 2011).

Al evaluar mediante interactómica la posible participación en la modulación del sistema inmune por el EDLc, encontramos ocho proteínas candidatas, entre ellas C3, ANXA5, CAMK2G, ITIH4, PABPC1, GRB2, LRP1, y SERPIND1. Estás muy probablemente regulen la actividad de las células del sistema inmune al estar involucradas en la modulación de las interleucinas IL-1 α y β, IL- 2, IL-4, IL-6, IL-12 α y β, IL-18, IL-23, y los factores INF-γ GM-CSF o CSF2 2, TNF, XBP-1 e IRF-4 en mastocitos, células dendríticas, células T y su diferenciación a células T CD4+ y CD8+, activación de macrófagos, así como la maduración y diferenciación de células B a células plasmáticas (**Fig. complementaria 1 y Fig. 9**).

Los resultados obtenidos sugieren fuertemente la función del EDLc como un potente inmunomodulador del sistema inmune bajo condiciones patológicas, como infecciones virales, bacterianas o parasitarias, además de la eliminación de células cancerosas por las células del sistema inmune al ser reguladas funcionalmente, como ha sido reportado en múltiples estudios.

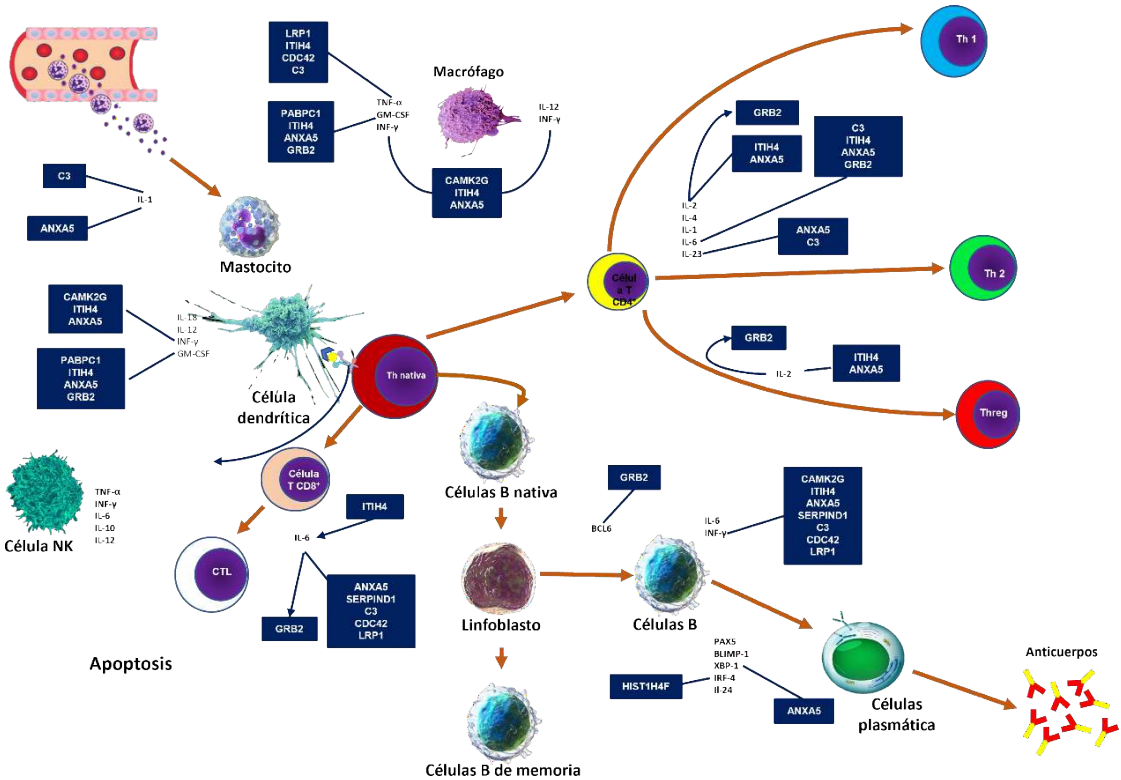

Figura 9. Inmunomodulación de células del sistema inmune por el EDLc. Las proteínas sin recuadro y en color negro inducen la maduración, diferenciación y activación de células del sistema inmune, mientras que las proteínas del recuadro azul marino están contenidas en el EDLc y pueden participar como reguladoras de estos procesos. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal, y las de color azul marino señalan interacciones directas de las proteínas del EDLc con las proteínas encargadas de la maduración, diferenciación y activación de células del sistema inmune, en este último caso, las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

EDLC COMO POSIBLE REGULADOR DE LA INFLAMACIÓN

El factor NF-κβ (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) es un complejo proteico que controla la transcripción del ADN. Esta proteína juega un papel fundamental en la regulación de la respuesta inmune provocada por infección. La regulación defectuosa del NF-kB está relacionada con el cáncer, enfermedades inflamatorias y autoinmunes, shock séptico, infecciones virales o un desarrollo inmune inadecuado. También está implicado en procesos de plasticidad sináptica y de memoria, entre otras (Echeverri y Mockus, 2008).

NF-κβ puede ser activado por toxinas, bacterias, virus, parásitos o estrés oxidativo, sin embargo, la principal vía molecular para su activación es mediante el receptor TNFR, el cual puede ser activado por distintas citocinas, o por el factor de necrosis tumoral (TNF), a

su vez, al ser activado pasa la señal río abajo activando a las proteínas adaptadoras TRAF2-IKK, esto permite inducir la fosforilación de IKB1 (en condiciones normales se encuentra heterodimerizada con NF-κβ) y, por lo tanto, la liberación y activación de NF-κβ. Una vez activado NF-κβ, este se transloca al núcleo y transcribe diversos genes que protegen e inducen la proliferación de células que, en otras condiciones, deberían morir por apoptosis para evitar que el daño se extienda. Además, también regula la transcripción de genes involucrados en distintos procesos celulares como son la maduración de distintas células inmunes, la regulación del ciclo celular, la biosíntesis de citocinas tanto inflamatorias como proinflamatorias, entre otros (Chen y Greene, 2004).

En este caso evaluamos el posible efecto de las proteínas del EDLc sobre la regulación de la inflamación mediada por el factor NF-κβ. Los resultados obtenidos muestran que las proteínas anexina 5, ITIH4, C3, TRAF2, TRADD, CDC42, LRP1 y YWHAQ del EDLc interactúan con el factor TNF-α, así mismo, las proteínas CALM3, YWHAB, TRAF2 y TRADD del EDLc presentaron interacción con IKB1, mientras que DHX9, ILF2, YWHAE, ILF2, TRAF2, TRADD, y RAN del EDLc se unen directamente con el factor NF-κβ, así como la activación de este por DHX9 (**Fig. complementaria 2 y Fig. 10**). Los resultados obtenidos sugieren que el EDLc pudiera modular el proceso de inflamación en tres niveles importantes de la vía molecular, ya que distintas proteínas del EDLc interactúan con IKB1 y los factores TNF-α y NF-κβ.

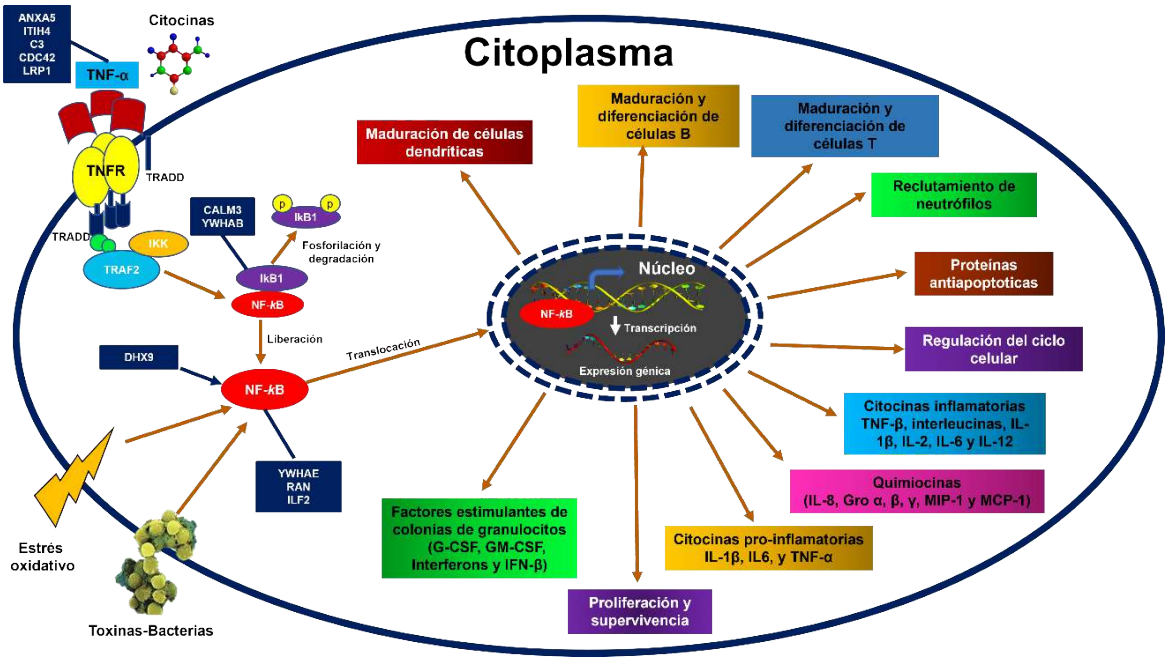

Figura 10. EDLc como modulador de la proteína NF-κβ. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal y las proteínas de los recuadros y flechas de color azul marino están contenidas en el EDLc, las cuales pudieran participar como reguladoras de la vía molecular. Las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

EDLC COMO POSIBLE INDUCTOR EN LA BIOSÍNTESIS DE PROSTAGLANDINAS

Las prostaglandinas son un conjunto de sustancias de carácter lipídico derivadas de los ácidos grasos de 20 carbonos (eicosanoides). Las prostaglandinas afectan y actúan sobre diferentes sistemas del organismo, incluyendo el sistema nervioso, el tejido liso, la sangre y el sistema reproductor. Estos juegan un papel importante en regular diversas funciones como la presión sanguínea, la coagulación de la sangre, la respuesta inflamatoria alérgica y la actividad del aparato digestivo, entre otras. Estas moléculas lipídicas son sintetizadas a partir de los ácidos grasos esenciales por la acción de diferentes enzimas como ciclooxigenasas, lipooxigenasas, el citocromo P-450 y peroxidasas principalmente. Por un lado, las ciclooxigenasas dan lugar a prostaglandinas, tromboxano A-II y prostaciclina (PGI2), y catalizan la formación de ácidos HPETEs, HETE y leucotrienos (Holdcroft, 1975). Dado que las prostaglandinas participan en las respuestas inflamatorias al estimular las terminales nerviosas del dolor, los antiinflamatorios no esteroides (AINEs), como el ibuprofeno, actúan inhibiendo la ciclooxigenasa y así, la producción de prostaglandinas.

Por otra parte, las prostaglandinas se ocupan de mantener la integridad y proliferación de la mucosa gástrica, al asegurarle un adecuado riego sanguíneo. Sin embargo, los AINEs,

al inhibir a las prostaglandinas, dejan a la mucosa gástrica vulnerable frente al ácido del estómago y aumenta el riesgo de sufrir erosiones y úlceras (Pérez-Ruiz et al., 2002).

Por tal motivo, evaluamos bioinformáticamente la posible función de las proteínas del EDLc sobre las enzimas que catalizan las prostaglandinas. En nuestro análisis observamos la interacción de GRB2, CDC42 y la familia YWHA del EDLc con la protein-cinasa C (PKC), la cual activa a la fosfolipasa A2 (cPLA2) y esta cataliza la formación del ácido araquidónico a partir de fosfoinositol 2 fosfato de las membranas celulares, mientras que, por otro lado, GRB2 del EDLc interacciona con la lipooxigenasa 5 ALOX5, induciendo la formación de HPETE y leucotrienos, además, la anexina 5 interactúa con Fosfolipasa A2 (PLA2G1B), la cual permite obtener glicerofosfolípidos y ácido araquidónico que sirven como precursores iniciales de la vía (**Fig. complementaria 3 y Fig. 11**). Como podemos apreciar, algunas proteínas del EDLc son capaces de modular posiblemente en distintos niveles la vía ácido araquidónico-prostaglandinas.

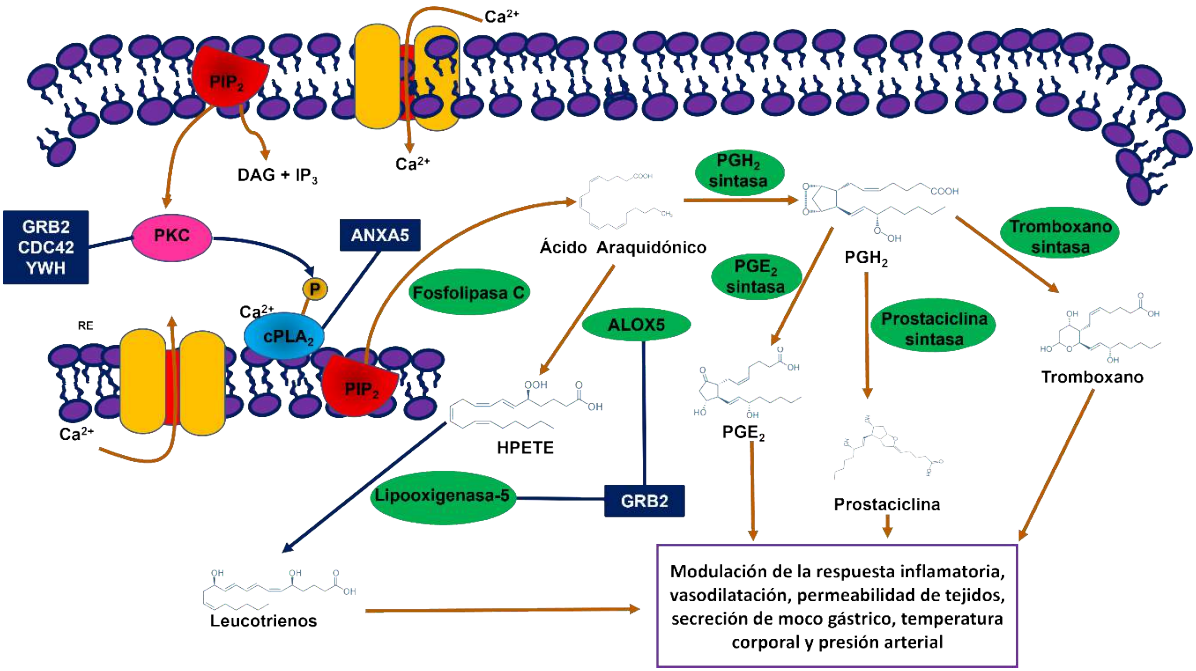

Figura 11. Proteínas del EDLc y su posible participación como moduladoras de la vía del ácido araquidónico-prostaglandinas. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal, mientras que las proteínas de los recuadros y flechas de color azul marino están contenidas en el EDLc y pudieran actuar como reguladoras de la vía molecular. Las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

EDLC COMO REGULADOR DEL CICLO CELULAR

El ciclo celular es un conjunto ordenado de sucesos cuyo objetivo es el crecimiento de la célula y su división en dos células hijas. Sus etapas son la G1, S, G2 y M. Las células que se encuentran con un ciclo activado son conocidas como proliferantes. Cada tipo de células tiene una forma de crecimiento diferente, no obstante, el crecimiento consiste en el aumento de masa celular y modificación de los orgánulos para lograr cumplir el ciclo de vida (Rodríguez-Gómez y Frías-Vázquez, 2014).

El ciclo celular es fundamental para el crecimiento y desarrollo de nuestro organismo. Sin este proceso, ningún ser vivo puede desarrollarse, crecer o reproducirse. Puede decirse que es un proceso esencial para la vida.

Este es de suma importancia, debido a que un proceso descontrolado resulta en un aumento celular y desarrollo de tumores, generando cáncer (Burgués-Gasión et al., 2005).

En este caso, realizamos un interactoma con las proteínas cruciales de las vías de señalización Ras/Raf, PI3K/AKT y WNT-β-Catenina y las proteínas del EDLc. Los resultados mostraron que las proteínas ANXA5, GRB2, CEC42 y la familia transductoras de señales YWHAE del EDLc pudieran ejercer una regulación de las primeras dos vías, mientras que las proteínas ANXA5, YWHA, GRB2, CDC42, NPM1, ASF1A, HIST1H2BJ, HIST2H2AC y DDX39A del EDLc sobre la vía WNT-β- Catenina (**Fig. complementaria 4 y Fig. 12**).

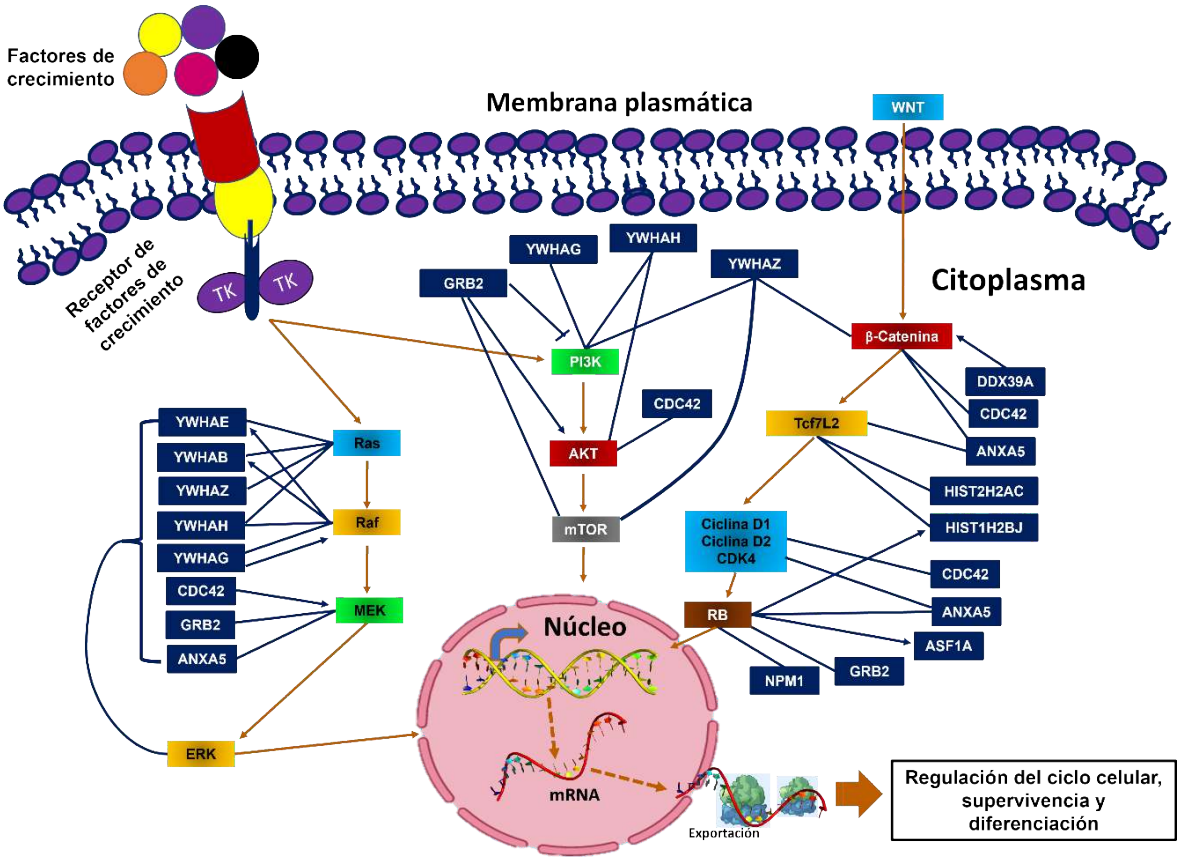

Figura 12. Proteínas del EDLc y su posible efecto como moduladoras del ciclo celular. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal y las proteínas de los recuadros y flechas de color azul marino forman parte del EDLc y pudieran participar como reguladoras de la vía molecular. Las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

Estos resultados obtenidos sugieren que las proteínas del EDLc pudieran tener un efecto dual en la regulación del ciclo celular en distintos puntos dependiendo el microambiente celular y las necesidades del organismo.

EDLC COMO REGULADOR DE LA APOPTOSIS

La apoptosis es una vía de destrucción o muerte celular programada inducida por la propia célula, con el fin de controlar su desarrollo, crecimiento y hacer posible la eliminación de las células dañadas, evitando la aparición de enfermedades como el cáncer. Este proceso puede ser de naturaleza fisiológica y está desencadenada por señales celulares controladas genéticamente.

La apoptosis adopta dos vías de ejecución, extrínseca e intrínseca, la primera es

dependiente de caspasas (cisteín-proteasas) y la segunda independiente de las mismas. Ambas vías culminan en la fragmentación ordenada de orgánulos, condensación y fragmentación de DNA y otros componentes como el citocromo C que inducen la muerte celular, exponiendo sobre su superficie moléculas señales como fosfatidilserina, las cuales pueden ser reconocidas por células del sistema inmune y ser eliminadas (Elmore, 2007).

Con la finalidad de evaluar el posible efecto del EDLc en dicho proceso, se obtuvieron los IDs de las principales proteínas en ambas vías como fueron la caspasa 8, 9, 2, 3, APAF-1 y los receptores de muerte celular para la vía extrínseca y para la intrínseca fueron BCL2, TP53, BAX, AIF, PAR, BID, IKK, NF-KB y BCL21. Los resultados del interactoma muestran que la anexina 5 del EDLc posiblemente puede interactuar con proteínas relacionadas en la vía extrínseca, como son los receptores de muerte (FASLG y FAS), TNF, TP53 y las caspasas 2 y 3, de igual modo, GRB2 del EDLc interactúa con la caspasa 3, y LRP1 del EDLc inhibe a la misma caspasa, también las proteínas del EDLc interactúan con proteínas de la vía intrínseca, las proteínas CDC42 por ejemplo, interactúa con TP53, y activa a NPM1, mientras que YWHAB del EDLc interactúa con Bid e IKB1, CALM3 e IKB1. Y las proteínas del EDLc, YWHAE, RAN, ILF2 y DXH9 interactúan con el factor Nf-kβ. Estos resultados sugieren que las proteínas del EDLc potencialmente podrían modular la apoptosis al activar o inhibir la vía extrínseca o intrínseca bajo condiciones específicas (**Fig. complementaria 5 y Fig. 13**).

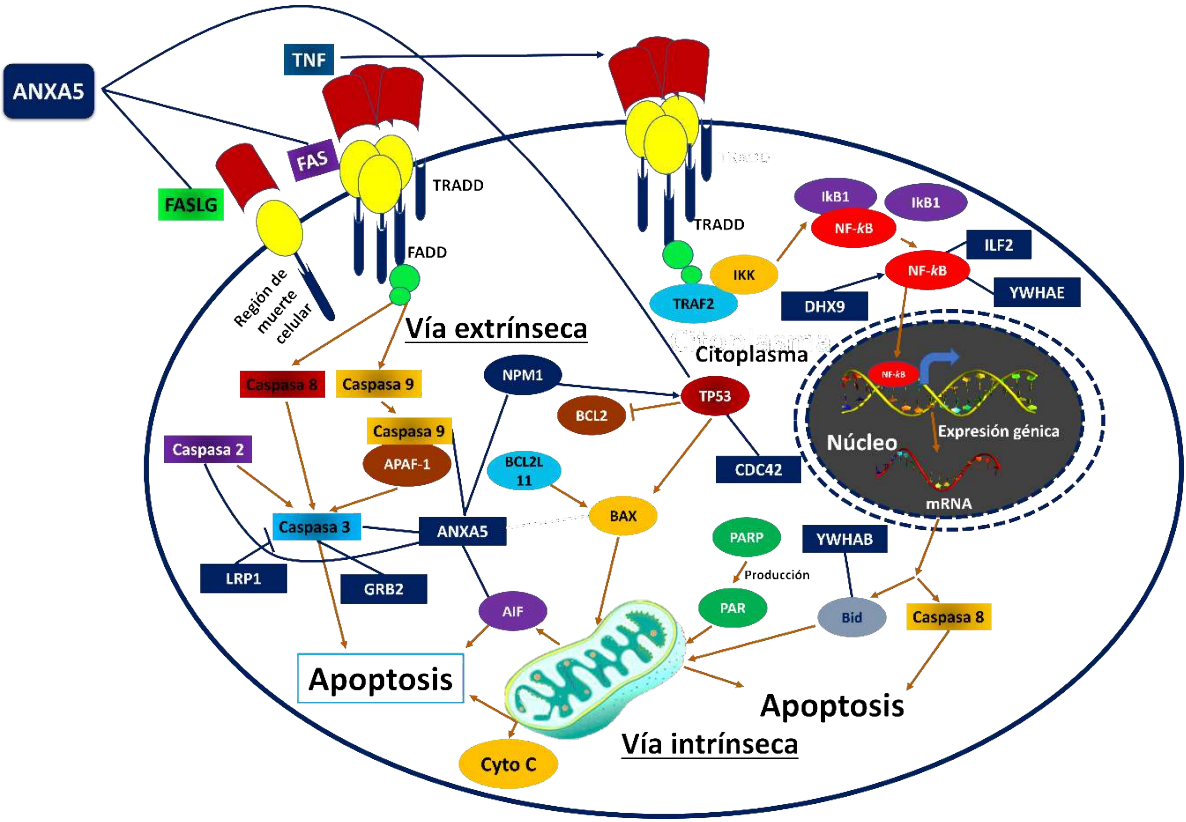

Figura 13. Proteínas del EDLc y su posible efecto como reguladoras del proceso de apoptosis celular en las vías extrínseca e intrínseca. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal, mientras que las proteínas de los recuadros y flechas de color azul marino las posee el EDLc y pudieran actuar como reguladoras de la vía molecular. Las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

EDLC COMO AGENTE HOMEOSTÁTICO DE LA GLUCOSA

La glicemia o cantidad de glucosa sanguínea en el humano es 1 mg/ml. Por lo cual, los organismos deben mantener constante la cantidad de glucosa sanguínea, de manera que no se prive a las células del organismo de esta molécula energética. El control homeostático de la glucosa involucra una serie de glándulas y hormonas. La glándula del sistema endocrino responsable del control homeostático de la glucosa es el páncreas. En el páncreas hay dos tipos de células, alfa y beta.

Cuando un organismo ingiere gran cantidad de carbohidratos, estos se digieren y entran al torrente circulatorio en forma de glucosa por lo que su nivel aumenta, durante el proceso de digestión el páncreas secreta insulina, la cual permite el ingreso de glucosa del torrente sanguíneo al espacio intracelular, mientras que las células alfa permiten un empaquetamiento de la glucosa, resultando en glucógeno (Rodríguez-Rodríguez et al.,

2015).

Existen distintas vías que pueden regular el ingreso de la glucosa al interior celular y llevar a cabo su oxidación. Una de las principales es la vía mediada por la insulina. La vía inicia cuando la insulina se une a su receptor, posteriormente, se realiza la fosforilación de dos proteínas adaptadoras, IRs y SHC. Estas proteínas organizan complejos moleculares que desencadenan diferentes cascadas de señalización intracelular. Entre las vías mediadas por IRS se encuentra PI3K/Akt, la cual tiene un papel crucial en la activación y la regulación de diversos eventos metabólicos, que incluyen el transporte de glucosa (al inducir la expresión y transporte de receptor GLUT4 a la membrana plasmática) y la síntesis de glucógeno, proteínas y lípidos. En el caso de la proteína Shc, esta se asocia a la activación de la vía de las cinasas activadas por mitógeno (MAPK) que regula funciones proliferativas y de crecimiento (Ahmed y Khalique, 2020, Velásquez et al., 2013).

El análisis bioinformático mostró que las proteínas GRB2, anexina 5, YWHAQ, YWHAE, YWHAZ, YWHAH, HNRNPA2B1,HNRNPK y EEF2 del EDLc pueden interactuar con AKT, de igual forma, las proteínas GDI2, SERPINB, GRB2, PPARGC1A, PPARG, KNG1, YWHAB, YWHAG, YWHAE y PABPC1 del EDLc interactúan con la proteína adaptadora IRs, además de que también las proteínas del EDLc GD12, GNB4, PPARG, ILF2, SERPINB3 y RARRES2 interactúan con RETN, de tal modo que estos resultados sugieren que las proteínas del EDLc potencialmente pueden regular la captación de glucosa mediante la activación de distintas vías e inducir la formación y translocación de vesículas transportadoras de GLUT4 a la membrana plasmática y permitir por ende, el acceso de la glucosa al espacio intracelular y su posterior oxidación (**Fig. complementaria 6 y Fig. 14**).

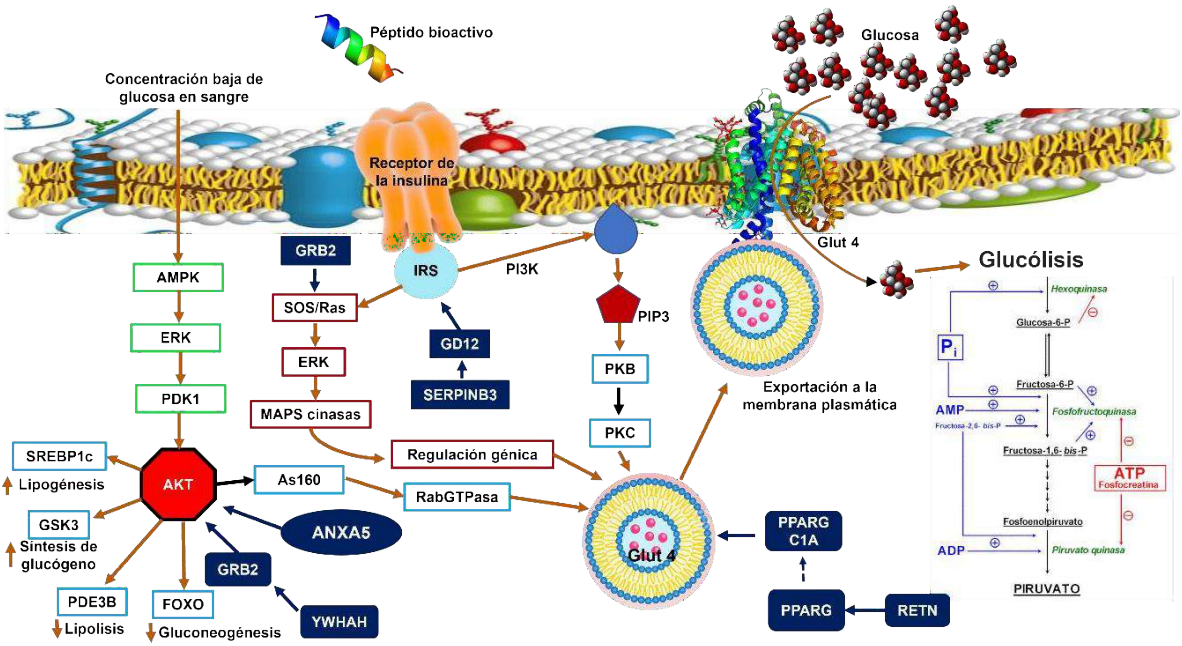

Figura 14. Proteínas del EDLc y su posible efecto como reguladoras de los niveles de glucosa. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal, mientras que las proteínas de los recuadros y flechas de color azul marino están presentes en el EDLc y pudieran participar como reguladoras de la vía molecular. Las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

REGULACIÓN DE LA CASCADA DE COAGULACIÓN POR EL EDLC

Se denomina coagulación al proceso por el cual la sangre pierde su liquidez convirtiéndose en un gel, para formar un coágulo. En este proceso participan alrededor de 30 proteínas diferentes, principalmente, factores de coagulación, los cuales convierten el fibrinógeno, en fibras de fibrina insolubles, y junto con las plaquetas, forman un trombo estable. La cascada de coagulación se divide para su estudio, en tres vías: I) la vía de activación por contacto (también conocida como vía intrínseca), II) la vía del factor tisular (también conocida como vía extrínseca) y III) la vía común. Las primeras dos vías convergen en la vía común, esta vía es el punto en que se activa el factor X, finalizando con la conversión de fibrinógeno en fibrina, y el posterior entrecruzamiento de está, estabilizando el coágulo (Guerrero y López, 2015).

Nuestro análisis bioinformático realizado mostró que las proteínas SERPIND1 y LRP1 del EDLc pudieran regular al factor FVIII ejerciendo un efecto anticoagulante, por otra vía, las proteínas ITIH4, C3 y COL7A1 del EDLc pudieran regular al factor Fv y SERPIND1 al FVa, evitando la activación de la trombina. Asimismo, una tercera vía muy probablemente puede ser modulada por las proteínas GNB4, C3, ITIH4, anexina 5 y SNRPE del EDLc,

las cuales interactúan con la protombina (factor II) y SERPIND1 evitando la conversión de protombina a trombina y también al interactuar con el factor FXIII (**Fig. complementaria 7 y Fig. 15**).

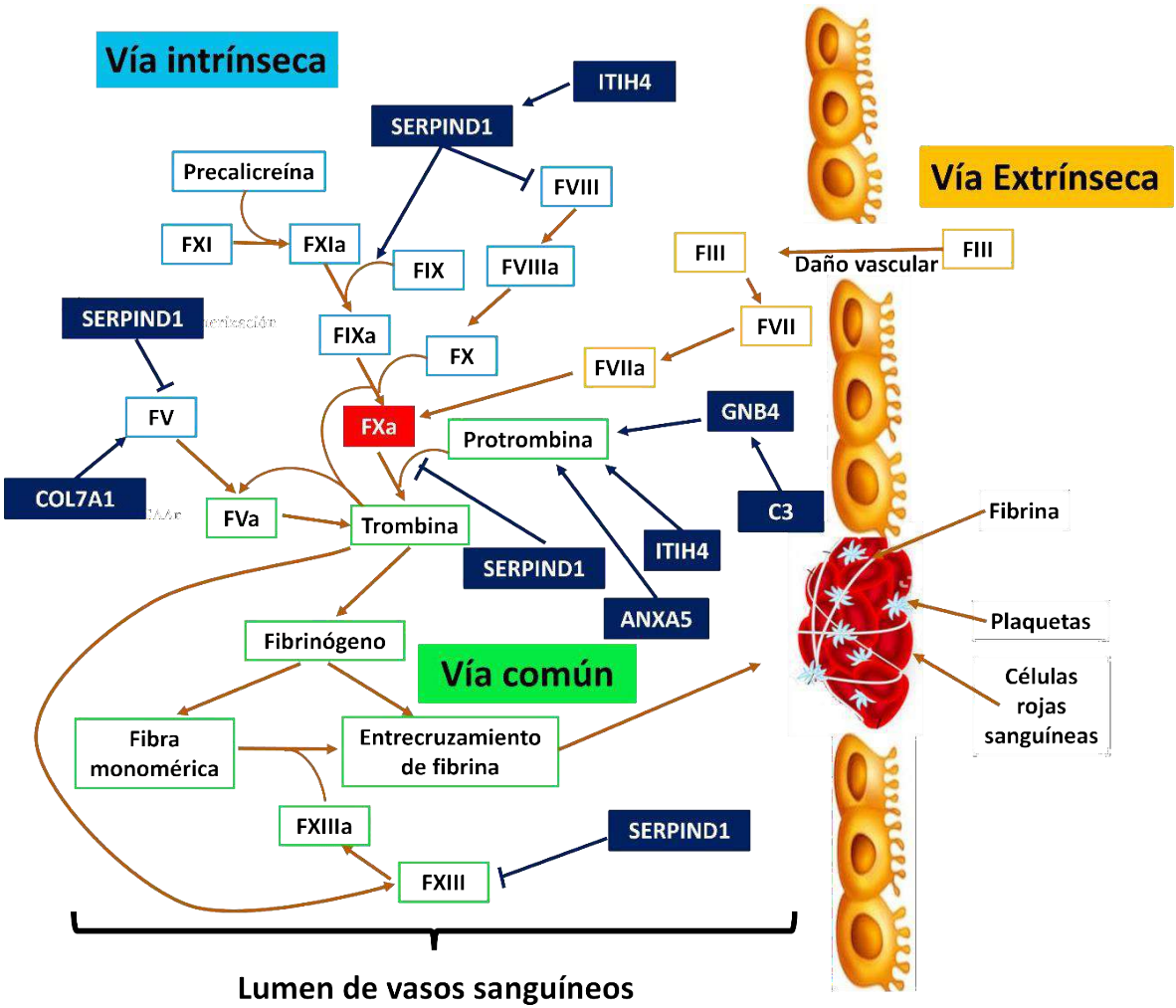

Figura 15. Proteínas del EDLc y su posible efecto como reguladoras de la cascada de coagulación. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal y las proteínas de los recuadros y flechas de color azul marino las posee el EDLc y pudieran ejercer funciones reguladoras en la vía molecular. Las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

Estos análisis bioinformáticos sugieren un efecto modulador por parte del EDLc sobre la cascada de coagulación a diferentes niveles y vías, destacando que en ellos participan la SERPIND1 en conjunto con la anexina 5, las cuales en la actualidad son usadas como anticoagulante, bloqueando la formación de trombina a partir de protrombina.

REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL POR EL EDLC

El sistema renina-angiotensina-aldosterona consiste en una secuencia de fases con el fin de regular la presión arterial. El primer paso del proceso ocurre cuando la presión arterial disminuye (sistólica, a 100 mm Hg o menos), los riñones liberan la enzima renina en el torrente sanguíneo, esta genera un corte en el angiotensinógeno (proteína grande que circula por el torrente sanguíneo) en dos fragmentos. El segundo fragmento es la angiotensina II, una hormona muy activa. Esta provoca la constricción de las paredes musculares de las arteriolas, aumentando la presión arterial. La angiotensina II también desencadena la liberación de la hormona aldosterona por las glándulas suprarrenales y de la vasopresina (hormona antidiurética) por la hipófisis (glándula pituitaria). La aldosterona y la vasopresina (hormona antidiurética) provocan la retención de sodio en los riñones, resultando en la retención de agua y aumentando así el volumen de sangre y la presión arterial (Lama y Oliva, 2001 y Schellack y Naicker, 2015).

Con la finalidad de evaluar un posible mecanismo molecular del EDLc sobre este proceso biológico, obtuvimos las proteínas importantes del sistema renina- angiotensina-aldosterona y las retamos con las proteínas del EDLc mediante un interactoma. El resultado obtenido mostró que las proteínas GNB4, GRB2, C3, CALM3, HNRNPR y NPEPPS contenidas en el EDLc pudieran regular la vía a nivel de las proteínas renina, del angiotensinógeno, ECA 1-2 y hormona antidiurética, modulando la presión arterial (**Fig. complementaria 8 y Fig.16**).

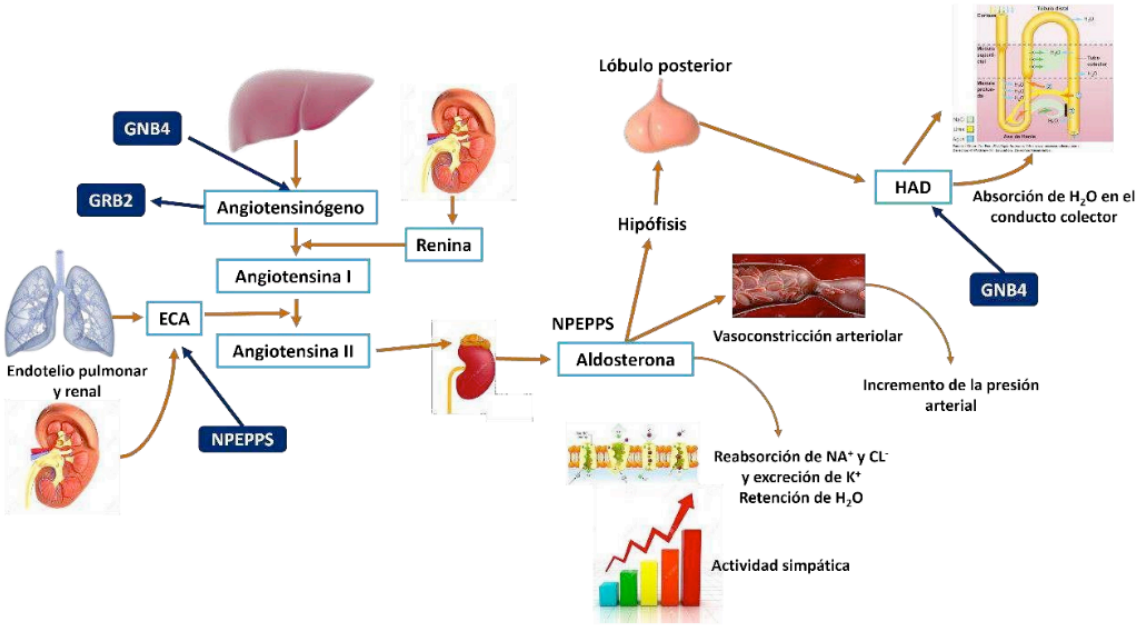

Figura 16. Proteínas del EDLc y su posible efecto como reguladoras del sistema renina angiotensina aldosterona. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal, mientras que las proteínas de los recuadros y flechas de color azul marino están contenidas en el EDLc y pudieran participar como moduladoras de la vía molecular. Las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

EDLC COMO POSIBLE ANTAGONISTA EN LA VÍA NOCICEPTIVA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El dolor es definido como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a distintas lesiones. En la piel y otros tejidos del cuerpo, existen neuronas sensitivas especializadas que poseen múltiples receptores llamados nocirreceptores, los cuales son encargados de la transducción de señales de dolor. Estos están conectados con terminaciones periféricas de las fibras aferentes sensoriales primarias. Reciben y transforman los estímulos locales en potenciales de acción que son transmitidos a través de las fibras aferentes sensoriales primarias hacia el SNC. El SNC decodifica la señal eléctrica generada en señales químicas, las cuales son interpretadas como dolor en el organismo. Los estímulos nociceptivos activan a la vez mecanismos encargados de la modulación inhibitoria tanto a nivel periférico, espinal y supraespinal (Wen y Muñoz, 2020, Coffeen et al., 2012).

Cuando hay un daño importante en el tejido, varias sustancias (algógenas) químicas son liberadas en el área que rodea a los nociceptores. Esto produce lo que se llama “sopa inflamatoria”, una mezcla ácida que estimula y sensibiliza los nociceptores en un estado llamado hiperalgesia. Algunos ejemplos de estas sustancias son las prostaglandinas,

potasio, serotonina, bradiquinina, y la histamina, las cuales son liberadas por las células dañadas (Xu et al., 2020).

Con el fin de evaluar el posible efecto del EDLc sobre la vía nociceptiva del SNC, se realizó un interactoma con proteínas claves de la vía, y fueron empleadas en la plataforma STRING con las proteínas del EDLc (**Fig. complementaria 9**).

Los resultados obtenidos mostraron una interacción de las proteínas ANXA5, C3, GNB4, ITIH4, HIST1H4F, HIST2H2AC y CALM3 del EDLc con las sustancias algógenas como la braquidina, prostaglandina, histamina y el receptor TRPV1, lo cual sugiere un posible mecanismo antagonista de las proteínas, sugiriendo que el EDLc pudiera modular el dolor en pacientes (**Fig. 17**).

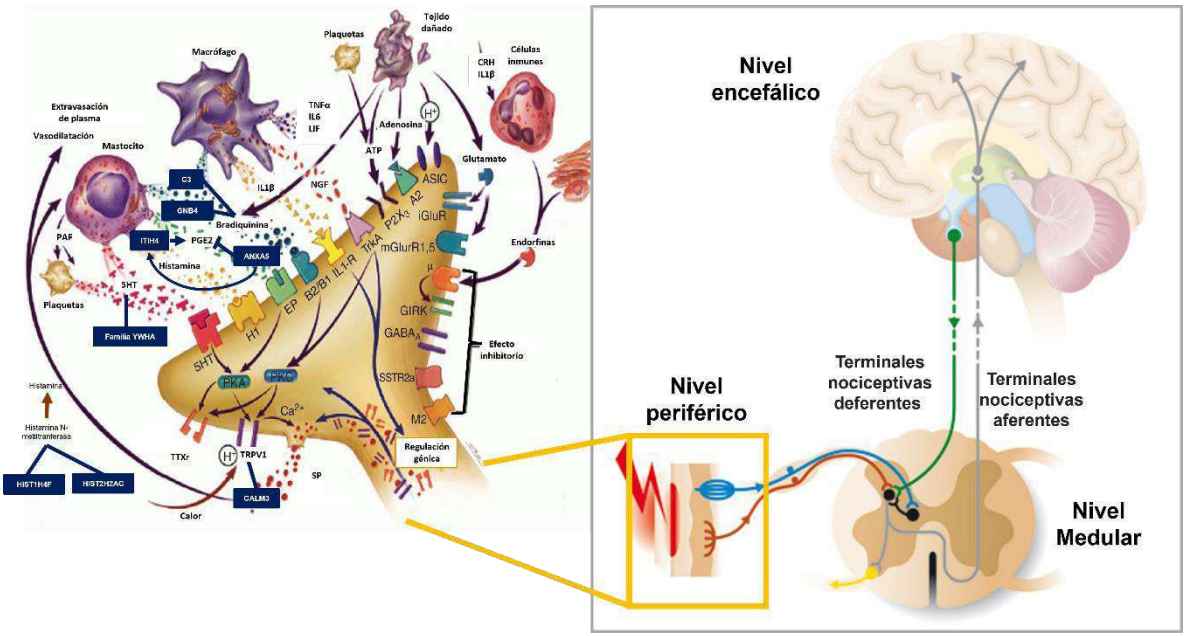

Figura 17. Proteínas del EDLc y su posible efecto como reguladoras de la vía del dolor. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal y las proteínas de los recuadros y flechas de color azul marino las contiene el EDLc y pudieran ejercer funciones reguladoras de la vía molecular. Las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

INDUCCIÓN DE LA REGENERACIÓN DEL TENDÓN POR EDLC

Las lesiones de los tendones plantean grandes problemas clínicos y terapéuticos, por su importancia funcional y su peculiar cicatrización. A pesar de la simplicidad de la estructura del tendón, la comprensión de su desarrollo estaba limitado por la ausencia de un marcador de linaje específico del mismo. Sin embargo, la identificación de varios

marcadores asociados selectivamente con tendones y tejidos musculoesqueléticos han hecho posible rastrear la formación y maduración de los tendones (Benjamin y Ralphs, 2000).

En la actualidad es poco el conocimiento que se tiene acerca del proceso molecular de la regeneración del tendón, sin embargo, hasta el momento se ha identificado una de las principales proteínas involucradas en este proceso, la cual es denominada como Escleraxis (Scx), esta se une a TSE2 para formar el heterodímero Scx/E47, que a su vez activa al colágeno tipo Iα1 (COLI a1), de igual modo, se ha observado que la sobreexpresión de Scx en fibroblastos de tendón incrementa la expresión del gen tenomodulina (Tnmd), esta es específica en tendones y ligamientos y es considerada como un biomarcador molecular. De igual modo, se han identificado la participación de distintas proteínas en la regeneración del tendón como son: FREEK, PAX1, PEA3/ERMSOX9, BMP1 y distintos factores de crecimiento, entre ellos: IGF1, PDGF, VEGF, y CTGF (Liu et al., 2014, y Voleti et al., 2012).

Con el fin de evaluar el posible efecto inductor de la regeneración de tendones del EDLc. se realizó un interactoma con las proteínas de este y las proteínas involucradas en el proceso de regeneración del tendón (**Fig. complementaria 10**).

El resultado obtenido mostró que las proteínas del EDLc interactúan principalmente con distintos factores de crecimiento, la proteína DDB1 del EDLc interactúa con el factor de crecimiento 8 (FGF8) y TCF3 con SCX. Por otras vías, las proteínas HIST1H4F, anexina 5, GRB2, YWHAH, CDC42, MYOF, C3, IL18 y LRP1 del EDLc pudieran favorecer la regeneración del tendón al interactuar con el factor de crecimiento insulínico tipo 1(IGF1), con la colágena alfa tipo 1 (COL2A1), con el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y con el factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) (**Fig. 18**). Estos resultados sugieren un posible efecto inductor de la regeneración de tendones por el EDLc.

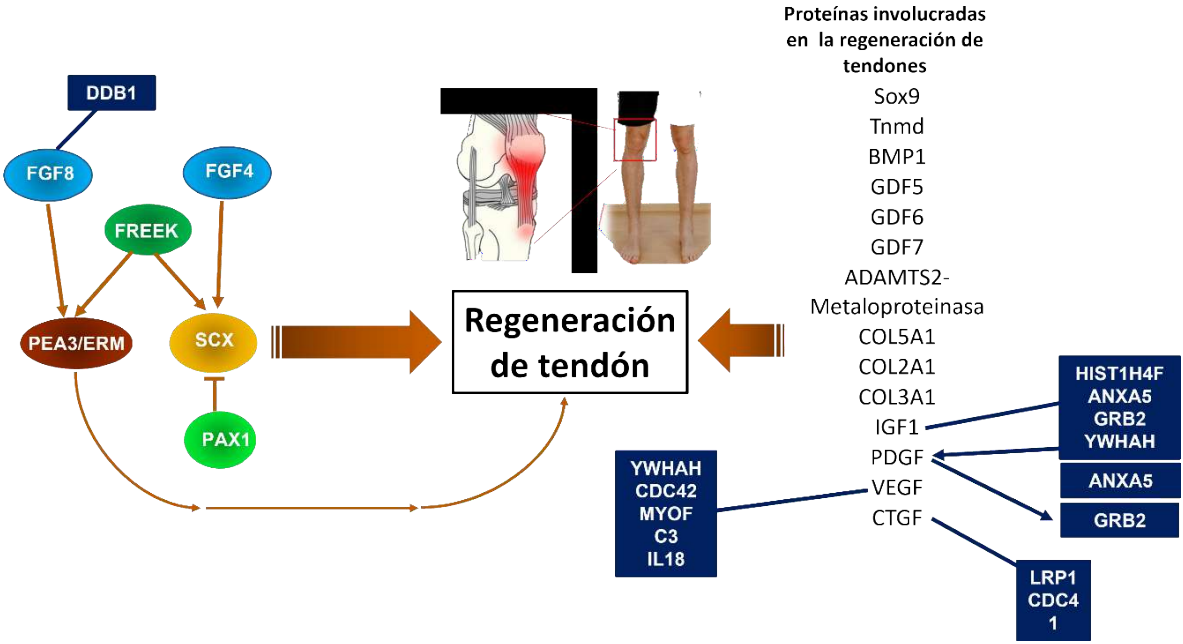

Figura 18. Proteínas del EDLc y su posible efecto inductor en la regeneración de tendones. Las flechas de color marrón indican el proceso fisiológico normal, mientras que las proteínas de los recuadros y flechas de color azul marino están en el EDLc y pudieran actuar como reguladoras de la vía molecular. Las flechas indican activación y las líneas solo interacción (se desconoce si activan o inhiben a su proteína blanco.

PUBLICACIONES REPRESENTATIVAS DEL EXTRACTO DIALIZABLE DE LEUCOCITOS EN PATOLOGÍAS DIVERSAS

Este capítulo aglutina de manera seria y científica las diversas actividades biológicas del EDLc y sus efectos positivos para la salud. las investigaciones fueron realizadas por nuestro grupo de investigación, liderado por el D en C. David Guillermo Perez Ishiwara.

I. La influenza A, como un problema mundial: "Una Visión de las terapias inmunomoduladoras"

Elvia Pérez Soto[1], Daniel García Martínez[1], Gómez García María del Consuelo[1], Guillermo Pérez Ishiwara[1]

RESUMEN: La influenza A es una enfermedad respiratoria aguda que ocasiona altas tasas de morbi-mortalidad en todo el mundo e incluso ha generado importantes pandemias a lo largo de la historia. En este artículo hacemos una revisión del proceso fisiopatogénico de la enfermedad, resaltando la participación de la respuesta inmune innata, y como su desregulación puede provocar una "hipercitocinemia", con la subsecuente inflamación exacerbada que conduce a la muerte del paciente. Finalmente, revisamos el uso de terapias inmunomoduladoras como la terapia coadyuvante que disminuye la inflamación, poniendo énfasis el hiltonol, el tocilizumab y el DLE, siendo este último una opción viable para combatir la infección viral.

Acceso libre en la página:

https://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx/volumen/vol05/index.html

II. Anti-inflammatory effect of dialysable leucocyte extract in a rat model of osteoarthritis: histopathological and molecular characterization

P Acosta[1], N Pérez[1], E Pérez[2], B Correa[3], C Pérez[3], C Gómez[1], V Sánchez[1], D G Pérez[1]

ABSTRACT: Objectives: To evaluate the effect of dialysable leucocyte extract (DLE) on pro- and anti-inflammatory profiles in a rat model of osteoarthritis (OA). **Method:** Forty-eight male Wistar rats were divided into three groups: normal rats without treatment, OA rats treated with placebo, and OA rats treated with DLE. After treatment, the animals were killed to obtain cartilage for histological analysis and to determine the expression of pro- and anti-inflammatory cytokines by reverse transcription multiplex polymerase chain reaction (RT-MPCR) and immunohistofluorescence analyses. **Results:** Histological analysis revealed that OA cartilage from rats treated with DLE displayed similar characteristics to non-OA cartilage from the control group. The OA cartilage treated with placebo showed alterations in the cellular architecture and in chondrocyte cluster formation. Analysis of cytokine expression by RT-MPCR showed that OA cartilage from DLE-treated rats expressed platelet-derived

growth factor (PDGF), interferon (IFN)-γ, and fibroblast growth factor (FGF)-2, similar to non-OA cartilage from the control group. However, OA cartilage from rats treated with placebo expressed interleukin (IL)-1, PDGF, and I kappa B (IκB). Confocal immunodetection of FGF-2, PDGF, and non-phosphorylated IκB showed that they were distributed in the cytoplasm of most chondrocytes in OA cartilage from DLE-treated rats whereas no nuclear factor kappa B (NF-κB) expression was observed in the nuclei. Instead, in OA cartilage from the placebo group, only weak FGF-2 staining was observed, PDGF and IκB were not detected, and NF-κB was strongly observed in both cytoplasm and nucleus. **Conclusions:** Our findings suggest that DLE treatment modifies the OA process, promoting the expression of anti-inflammatory cytokines and diminishing the inflammatory effects, avoiding the nuclear translocation of NF-κB in chondrocytes.

Acceso libre en la página:

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27098310/

III. Effect of Dialyzable Leukocyte Extract on chronic cervicitis in patients with HPV infection

M P Acosta-Rios[1], E Sauer-Ramírez[2], L J Castro-Muñoz[1], M García-Solís[3], C Gómez-García[1], R Ocadiz-Delgado[4], A Martinez-Martinez[5], V Sánchez-Monroy[1], C Pérez-De la Mora[6], B Correa-Meza[7], D G Perez-Ishiwara[1]

ABSTRACT: The objective of the study was to assess the clinical, histopathological and immunochemical changes induced by dializable leukocyte extract (DLE) treatment in patients with chronic cervicitis associated to HPV infection. Fifty-four female Mexican patients diagnosed with chronic cervicitis, cervical intra-epithelial neoplasia grade 1 (CIN 1) and HPV infection were divided into two groups: patients treated with placebo and patients treated with DLE. Clinical and colposcopy evaluations were performed before and after treatments. Cervix biopsies were obtained to analyze histopathological features and to determine the local immunological changes by immunohistochemistry analyses. Placebo-treated patients showed no significant changes in the evaluated parameters. Interestingly, in DLE-treated patients, clinical manifestations of cervicitis diminished and 89% of them remitted the colposcopic lesions. Histological analyses of biopsies from DLE-treated patients showed a decreasing leukocyte infiltrate. Immunochemical analyses showed an increased expression of TGF-β, while expression of IFN-γ, PCNA, and IL-32 decreased. Our results suggest that DLE can stimulate innate immunity of cervical mucosae, diminishing chronic cervicitis in HPV-infected patients.

Acceso libre en la página:

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29362599/

IV. Anti-Inflammatory Effect of Dialyzable Leukocyte Extract in Autoimmune Prostatitis: Evaluation in Animal Model

Carlos Pérez-Alvarado[1], Consuelo Gómez1, Miguel Reyes[2], Mario García[3], Elizabeth Pérez[4], Carlos Pérez de la Mora[5], Virginia Sanchez[1], D Guillermo Pérez Ishiwara[1]

ABSTRACT: Objective. To evaluate the anti-inflammatory properties of Dialyzable Leukocyte Extract (DLE) in a murine model of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CP/CPPS). **Methods.** Histopathological characterization, prostatein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, and immunohistochemical analysis for CD45, TNF-α, IFN-γ, IL-6, IL-17, and IL-4 molecules were done in prostatic Wistar rats treated with DLE, placebo, or Dexamethasone. **Results.** Histopathological analysis of animals induced to prostatitis showed inflammatory infiltrate, mainly constituted by leucocytes and mast cells as well as Benign Prostatic Hyperplasia. Serum prostatein concentrations were 14 times higher than those displayed by healthy animals. After DLE and Dexamethasone treatments, the inflammatory infiltrate decreased; the tissue morphology was similar to that of a normal prostate, and the prostatein decreased to the basal levels of healthy animals. DLE treatment produced a decreased expression of the cell surface marker CD45 and the proinflammatory cytokines TNF-α, IFN-γ, IL-6, and IL-17. On the other hand, the expression of anti-inflammatory cytokine IL-4 increased in both the Dexamethasone and DLE groups. **Conclusion.** DLE is able to modulate the inflammatory response in Experimental Autoimmune Prostatitis (EAP).

Acceso libre en la página:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5366182/

V. Efecto inmunomodulador del Extracto Dializable de Leucocitos (DLE) sobre la expresión génica de IFN-γ en células Jurkat

Elvia Pérez-Soto[1,2], Virginia Sánchez-Monroy[1], Carlos Pérez-De La Mora[3], David Guillermo Pérez-Ishiwara[1]

Resumen: El Extracto Dializable de Leucocitos (DLE) se ha empleado clínicamente para el tratamiento de padecimientos infecciosos, oncológicos y particularmente inmunológicos debido a sus propiedades inmunomoduladoras. El presente estudio fue diseñado para evaluar el efecto inmuno-activador de diferentes concentraciones del DLE sobre la inducción de la expresión génica y proteica del IFN-γ en células Jurkat, mediante RT-PCR en tiempo real y ELISA, respectivamente. Los resultados mostraron que concentraciones del DLE de 29, 114 y 171 μg/ml, incrementaron 6.4 ± 1.57, 6.39 ± 0.15 y 4.02 ± 0.30 veces más la expresión de IFN-γ, sin embargo, no se detectó la proteína en los cultivos.

Acceso libre en la página:

https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956617006

VI. Efecto inmunomodulador y anti-inflamatorio de la profilaxis con el Extracto Dializable de eucocitos (EDLp) en un modelo murino de influenza A.

Elvia Pérez[1], Juan Ocampo[2], Carlos Cabello[3], Pablo Muriel[4], María del Consuelo Gómez[1], Adolfo Pérez[5], Salvador Pérez Mora[1], David G. Pérez Ishiwara[1]

RESUMEN: Objetivo. Se determinó si el EDLp es capaz de modificar el proceso inmunopatogénico e inflamatorio en influenza A. **Materiales y métodos.** Se infectaron ratones Balb/c con el virus de influenza A, posteriormente se evaluó el EDLp y se realizó un análisis clínico, histopatológico (H&E y Tricrómica de Masson) y molecular (colágena, IL-1β e IL-6). **Resultados.** Los animales tratados con el EDLp (EDLp+AH1N1) mostraron respiración agitada y erizamiento, así como un decremento de la masa pulmonar comparado con el grupo AH1N1. Histopatológicamente, los ratones presentaron menos lesiones edematosas difusas y un decremento del infiltrado linfocitario, con presencia de macrófagos y células plasmáticas. Además, la colágena disminuye en el espacio intersticial alveolar (2.975 ± 0.4150 vs 4.541 ± 0.2016 mg colágena/tejido pulmonar), así como los niveles de IL-1β (6480 ± 1967 vs 0 ± 0 pg/mL) e IL-6 (12359 ± 2032 vs 848.5 ± 296 pg/mL). **Conclusión.** El EDLp mejora los signos clínicos, disminuye la neumonitis y la fibrosis pulmonar por la disminución de colágena, además hay disminución de la IL-1β e IL-6, modulando la respuesta inmune exacerbada y la inflamación.

Acceso libre en la página:

https://educapes.capes.gov.br/bitstream/capes/714890/1/Efecto%20inmunomodulador%20y%20anti-inflamatorio%20de%20la%20profilaxis%20con%20el%20Extracto%20Dializable%20de.pdf

EXPECTATIVAS Y FUTURO BIOTECNOLÓGICO Y MÉDICO DE LOS PÉPTIDOS BIOACTIVOS Y DEL EDLC COMO MEDICAMENTOS COMPLEJOS

Como hemos comentado a lo largo del libro, los péptidos bioactivos provienen de diversas proteínas de origen natural que, tras un procesado industrial o un proceso natural mediante la digestión gastrointestinal, se producen en secuencias de pequeño tamaño que pueden ir de 3 a 20 aminoácidos (Sánchez y Vázquez, 2017). El hecho de que estos péptidos puedan ejercer efectos fisiológicos benéficos para la salud dependerá de la secuencia nucleotídica, de la concentración y de su biodisponibilidad. Existe un considerable interés comercial en el desarrollo de estos productos con potencial beneficioso para la salud, de hecho, muchos de estos productos son ya producidos como parte de "alimentos funcionales" por diversas industrias en diferentes países de todo el mundo, como Japón, USA y Europa (Agyei y Danquah, 2011). Sin embargo, es clara la necesidad de realizar investigación biomédica seria, que fundamente las potenciales funciones efectuadas por los péptidos bioactivos en patologías específicas.

En este último capítulo de este libro abordaremos de una manera sintética las expectativas que consideramos el uso de los péptidos bioactivos respecto a su producción y escalamiento biotecnológico, su utilidad en alimentos funcionales y particularmente el poder documentar de manera científica los beneficios hasta ahora conocidos para la salud y su posibilidad de poder emplearlos como medicamentos complejos.

Hemos revisado en el primer capítulo del libro que la mayoría de los péptidos bioactivos se encuentra formando parte de la secuencia de los polipéptidos nativos, provenga este de células, tejidos o proteínas de origen animal o vegetal. Tras su liberación natural o industrial por hidrólisis enzimática o química, los péptidos libres pueden convertirse en fisiológicamente activos (bioactivos) y se pueden usar como ingredientes para formular alimentos funcionales o suplementos terapéuticos.

El primer péptido bioactivo derivado de los alimentos fue identificado en 1950 por Mellander, el autor informó que algunos péptidos fosforilados derivados de la caseína mejoraban la calcificación de los huesos (independientemente de la vitamina D) en bebés que padecían de Raquitismo). Actualmente, las proteínas de la leche constituyen una principal fuente de péptidos bioactivos y la fermentación bacteriana es uno de los métodos utilizados para producirlos. De esta manera se pueden obtener Isracidina, Caseicina, Casocidina, Casomorfina, IPP y VPP, entre otros (Lahov y Regelson, 1996 y Chakrabart y Wu, 2015).

Es importante mencionar que un estudio reciente mostró que la leche materna

contenía cerca de 200 péptidos endógenos diferentes (algunos de ellos bioactivos), y que tras la extracción de muestras de contenido gástrico de los neonatos 2 h después de su ingestión, se identificaron 649 péptidos de la leche (la mayoría derivados de la β-caseína e identificados previamente con actividad biológica potencial).

Péptidos bioactivos también se podrían obtener a partir de algas, peces, moluscos, crustáceos y subproductos marinos (aletas, piel, etc.), mediante hidrólisis enzimática o fermentación. A partir de ellos, por ejemplo, se han logrado identificar tanto péptidos bioactivos endógenos, como algunos péptidos bioactivos antioxidantes, ello al hidrolizar las proteínas musculares del jurel redondo y del lenguado (Wölk et al., 2021, Zhou et al., 2019).

La carne de ganado o viseras de ovejas, cabras, cerdos y aves de corral constituyen las fuentes más importantes de alimentación para consumo humano (Murphy y Allen, 2003). De particular relevancia, los péptidos bioactivos de leucocitos derivados de distintas especies son obtenidos de leucocitos de sangre periférica humana, tejido linfoide de bovino, cerdos y en especial de cocodrilo.

Diversos estudios científicos, entre los cuales se incluyen en este libro los generados por nuestro grupo de investigación, han documentado diversos péptidos con actividades biológicas para el tratamiento de diversas patologías. Evidenciando experimentalmente los efectos antinflamatorios, antivirales, antitumorales, antibacterianos y particularmente inmunomoduladores derivados del EDLc de al menos dos especies de cocodrilo, los cuales se producen industrialmente y se comercializan por la empresa Farmainmune.

Los estudios de proteómica del EDLc y los análisis bioinformáticos presentados en este libro sugieren fuertemente la existencia de diversos péptidos bioactivos con enorme potencial como adyuvante farmacológico en distintas patologías. Hecho que permitirá sugerir al FACTRAN como un medicamento complejo, que explica los efectos benéficos documentados en el presente libro, relacionados con patologías infecciosas y cancerosas, por citar algunas.

USOS Y PROYECCIÓN DE LOS PÉPTIDOS BIOACTIVOS TERAPÉUTICOS DEL 2020 AL 2030

Los péptidos bioactivos representan una proporción importante del mercado farmacéutico, con ventas mundiales superiores a 70.000 millones de dólares en el 2019. Lo cual es superior al doble de ventas comparado con el 2013. Los 200 fármacos peptídicos más vendidos en el 2019 incluyen 10 no insulínicos. Interesantemente, los tres más vendidos son análogos de GLP-1 para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, entre ellos Trulicity (dulaglutida) ocupó la posición 19 con 4.390 millones de dólares de ventas al por menor, Victoza (liraglutida) se posicionó en el número 32 con 3.290 millones de dólares de ventas,

y Rybelsus (semaglutida) en el 83 con 1.680 millones de dólares de ventas (Grand View Research, 2016, Group, 2020 y Muttenthaler et al., 2021).

Asimismo, el tamaño del mercado mundial de péptidos terapéuticos se valoró en 39.3 mil millones de dólares en el 2021 y se espera que se expanda a una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) del 6.4% desde el 2022 hasta 2030. La creciente incidencia del cáncer, así como los trastornos metabólicos, osteoporosis, obesidad y diabetes, impulsarán la adopción del uso de estos péptidos bioactivos durante el período de proyección.

Debido al creciente número de pacientes pediátricos afectados y a las enfermedades en los países de bajos ingresos, existe una gran demanda de medicamentos eficaces y de bajo costo, por lo cual los péptidos terapéuticos ocuparan un lugar importante en el mercado para el tratamiento de diversas patologías (Grand View Research, 2022).

Actualmente, el estudio se centra en la búsqueda y obtención de péptidos bioactivos con efecto terapéutico contra la enfermedad por coronavirus del 2019, más conocida como COVID-19, la cual es causada por el virus SARS-CoV-2. Los investigadores de todo el mundo están buscando compuestos que bloqueen los mecanismos implicados en la infección respiratoria aguda grave y la replicación del virus. En consecuencia, debido a que los fármacos peptídicos están siendo reconocidos como un tratamiento potencial para el COVID-19, se estima que este tendrá un impacto positivo, posicionándose en excelentes lugares en el mercado mundial en el factor salud (Çakır et al., 2021 y Grand View Research, 2022).

PERSPECTIVAS

Los grandes avances en la biología molecular, la química de los péptidos y las tecnologías de administración de péptidos han permitido un progreso significativo en los campos del descubrimiento de fármacos peptídicos, la producción de péptidos y sus aplicaciones terapéuticas. Sin lugar a duda, el desarrollo tecnológico y biomédico actual y el exponencial crecimiento de las ciencias ómicas permitirá enfocarse de manera sistematizada al estudio detallado a nivel bioquímico y molecular de los péptidos bioactivos, particularmente aquellos derivados del EDLc y de aquellos obtenidos de otras especies animales, para determinar sus mecanismos de acción, su biodisponibilidad y sus cinéticas farmacológicas para ser considerados en una nueva terapéutica más natural, de menor toxicidad, autosustentable y amigable con el ser humano que permita coadyuvar en el control de una enorme variedad de estados patológicos. Identificar potenciales secuencias de aminoácidos que pudiesen incrementar y diversificar sus aplicaciones dietéticas y funcionales, para sumar evidencia científica para el mayor uso de suplementos nutricionales con benéfico para la salud.

FIGURAS COMPLEMENTARIAS

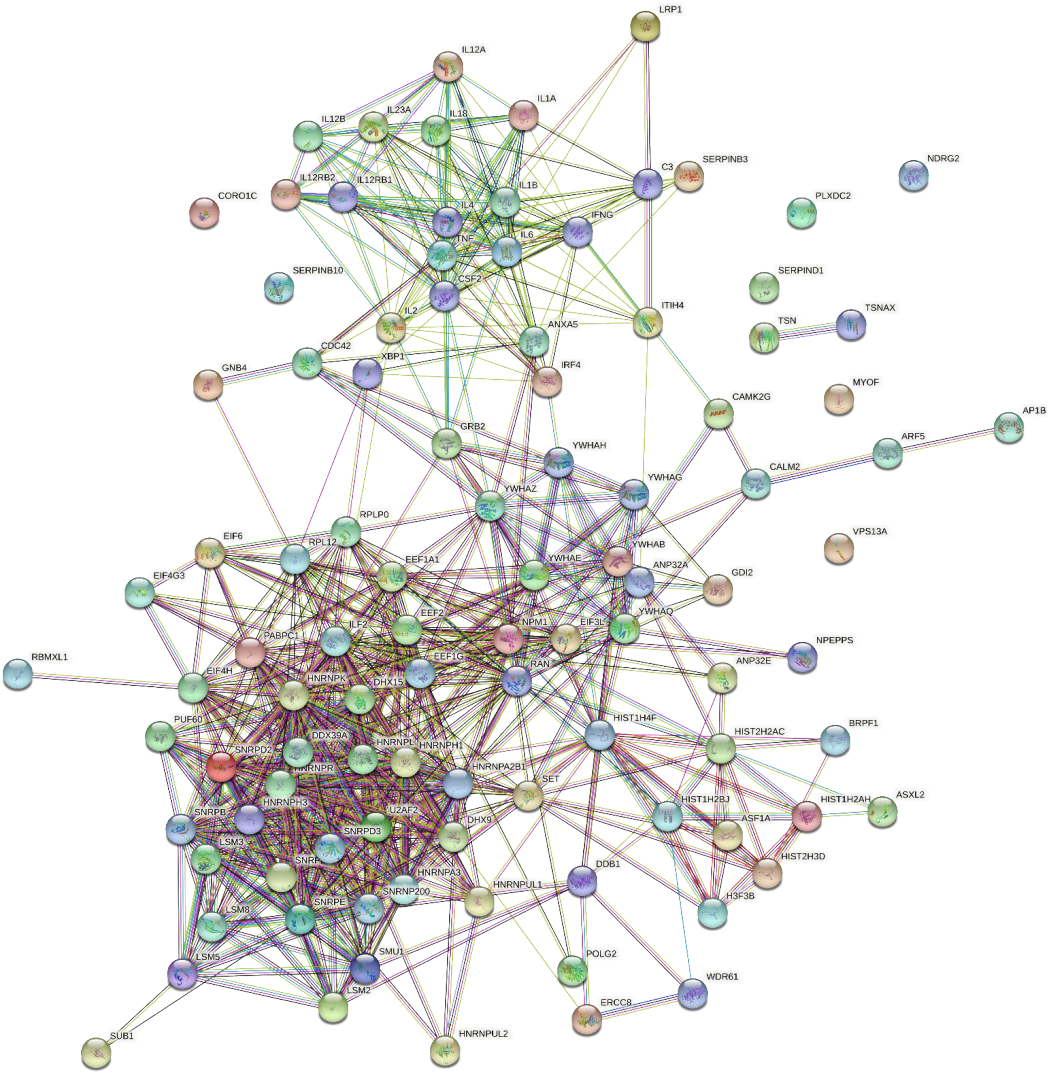

Figura complementaria 1. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas inmunomoduladoras relacionadas a la maduración, diferenciación y activación de células del sistema inmune. Estas últimas están señaladas con círculos rojos. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas.

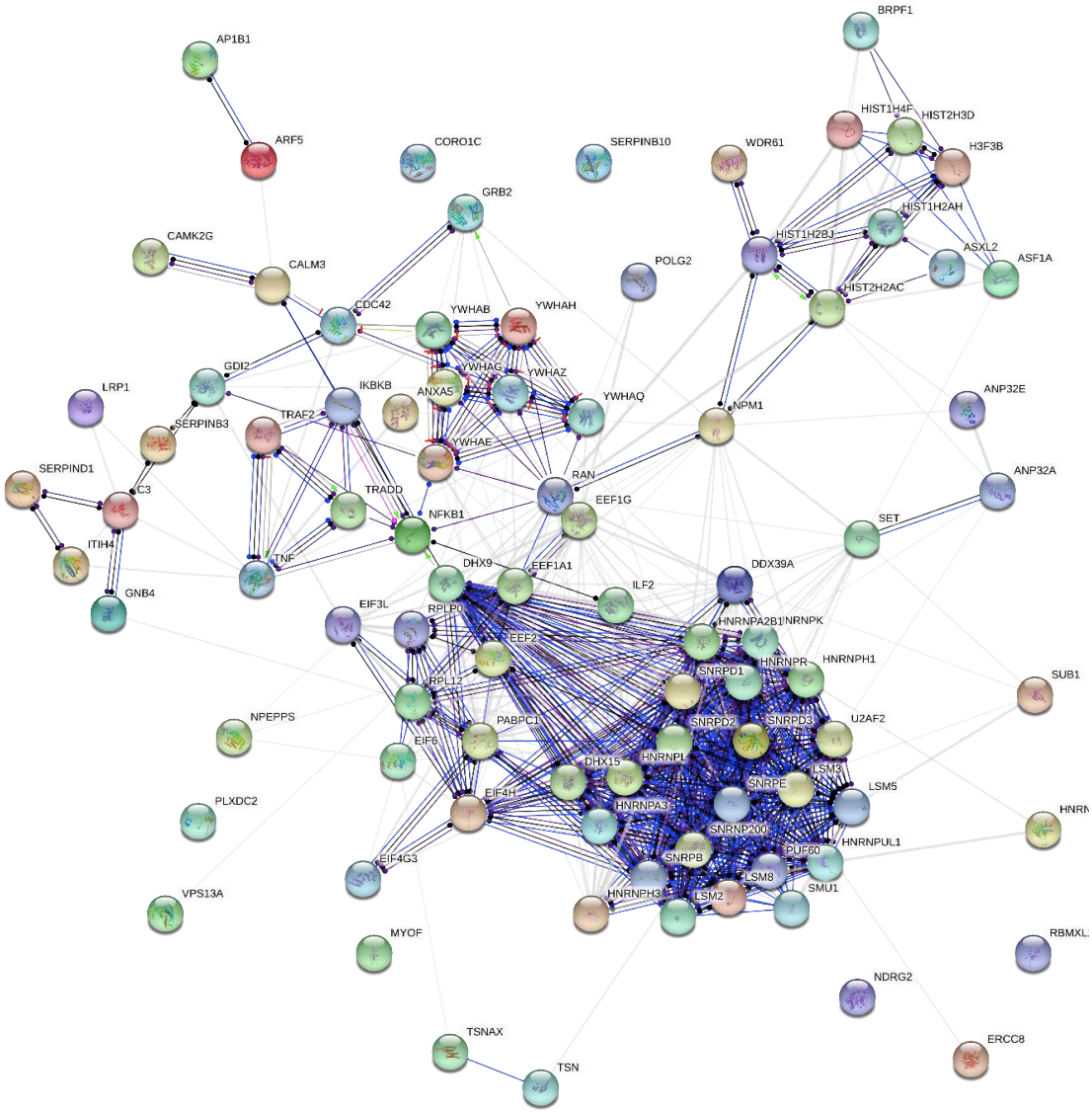

Figura complementaria 2. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas reguladoras de la inflamación. Los círculos rojos enmarcan a las proteínas importantes en la vía. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas, destacando que las flechas de color verde indican la activación de la proteína blanco y las rojas inhibición.

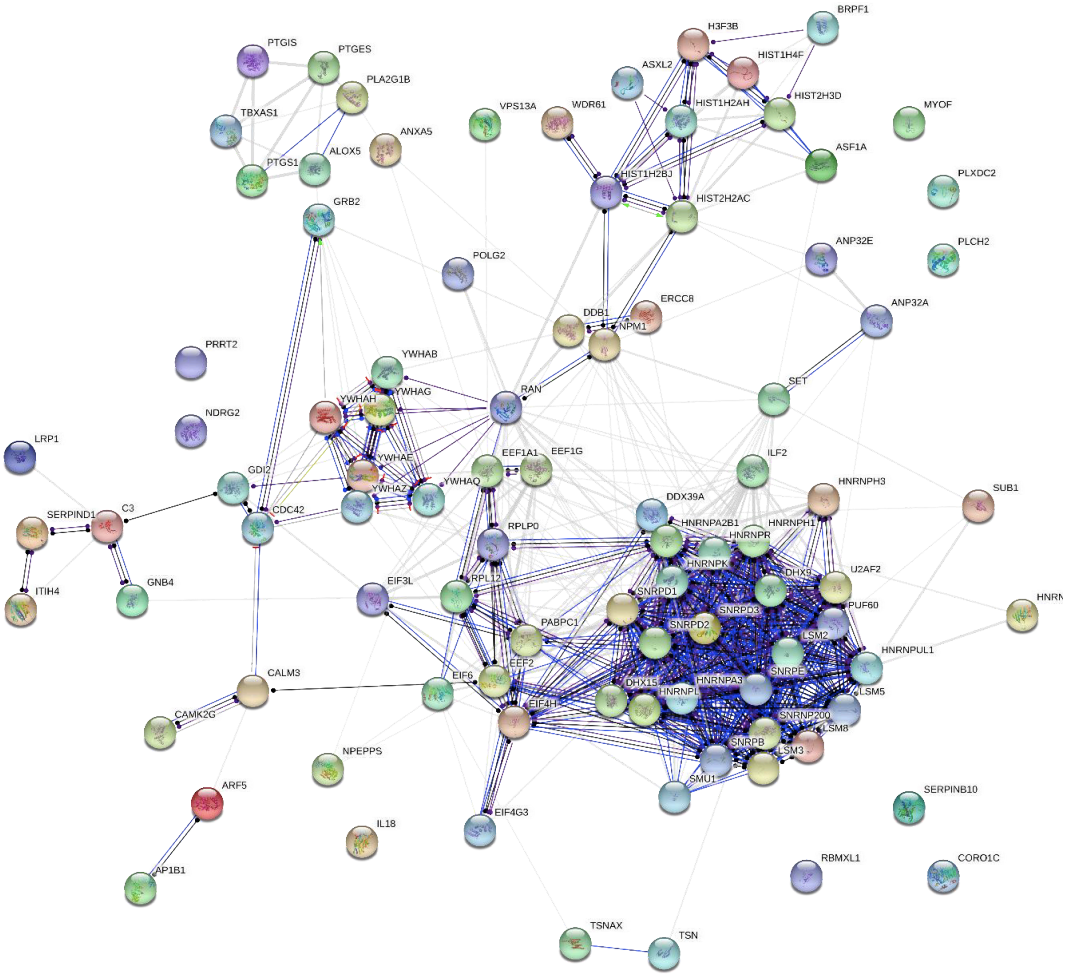

Figura complementaria 3. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas clave en la modulación de la biosíntesis de prostaglandinas. El círculo rojo resalta a las proteínas importantes en la vía. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas, destacando que las flechas de color verde indican la activación de la proteína blanco y las rojas inhibición.

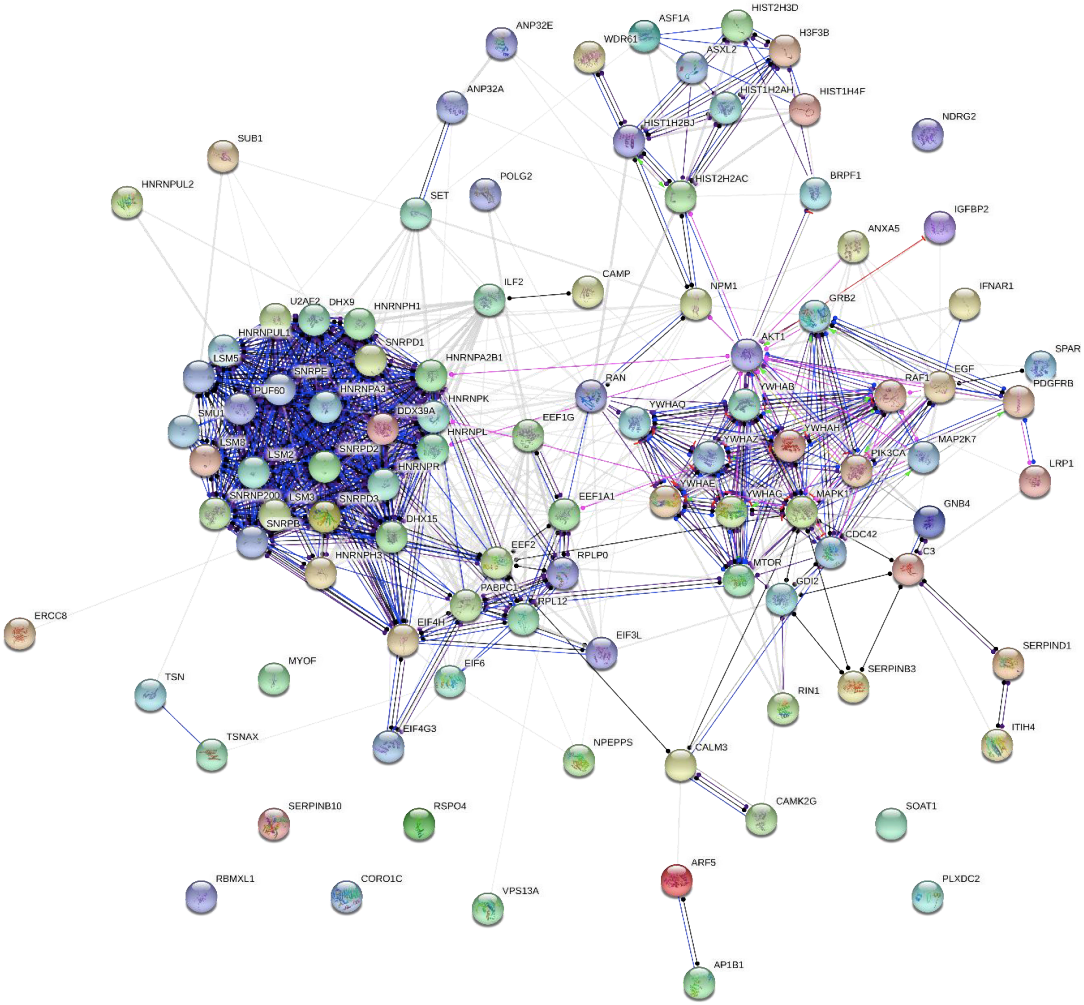

Figura complementaria 4. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas clave en la proliferación celular. Los círculos rojos resaltan a las proteínas importantes en la vía. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas, destacando que las flechas de color verde indican la activación de la proteína blanco y las rojas inhibición.

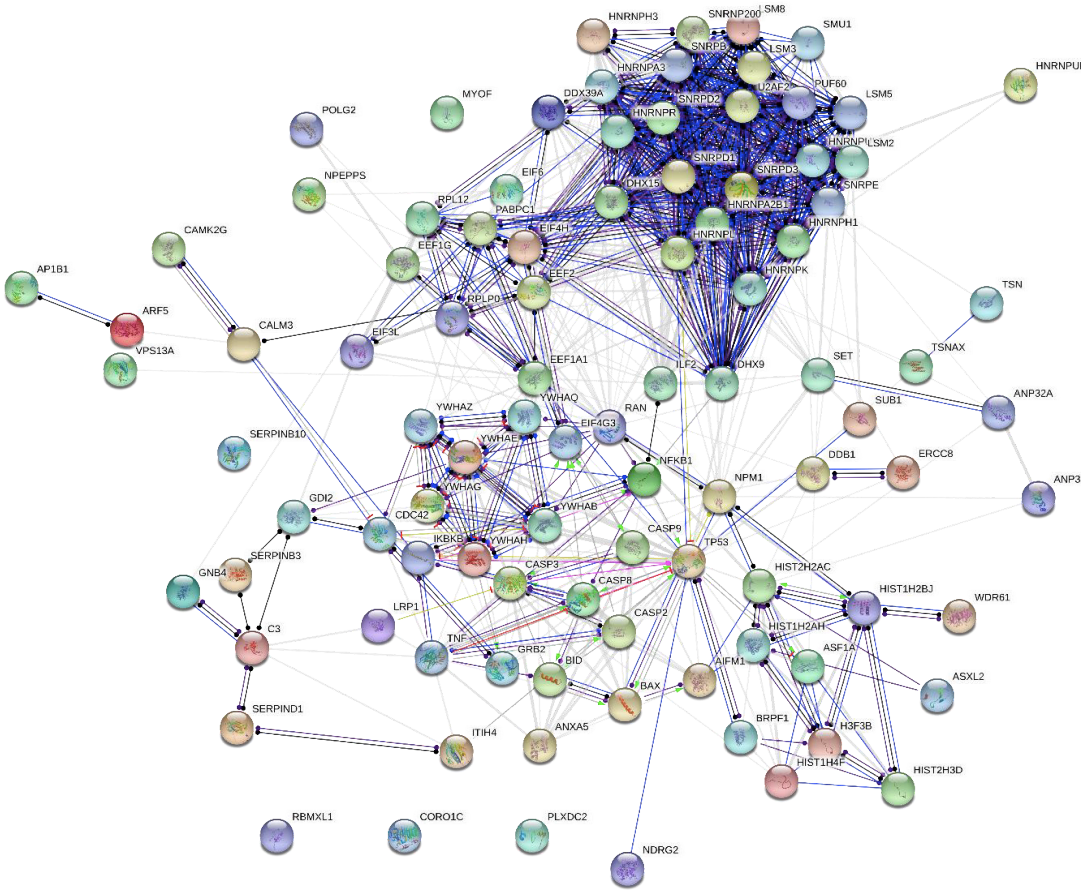

Figura complementaria 5. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas importantes en la apoptosis. Los círculos rojos enmarcan a las proteínas importantes en la vía. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas, destacando que las flechas de color verde indican la activación de la proteína blanco y las rojas inhibición.

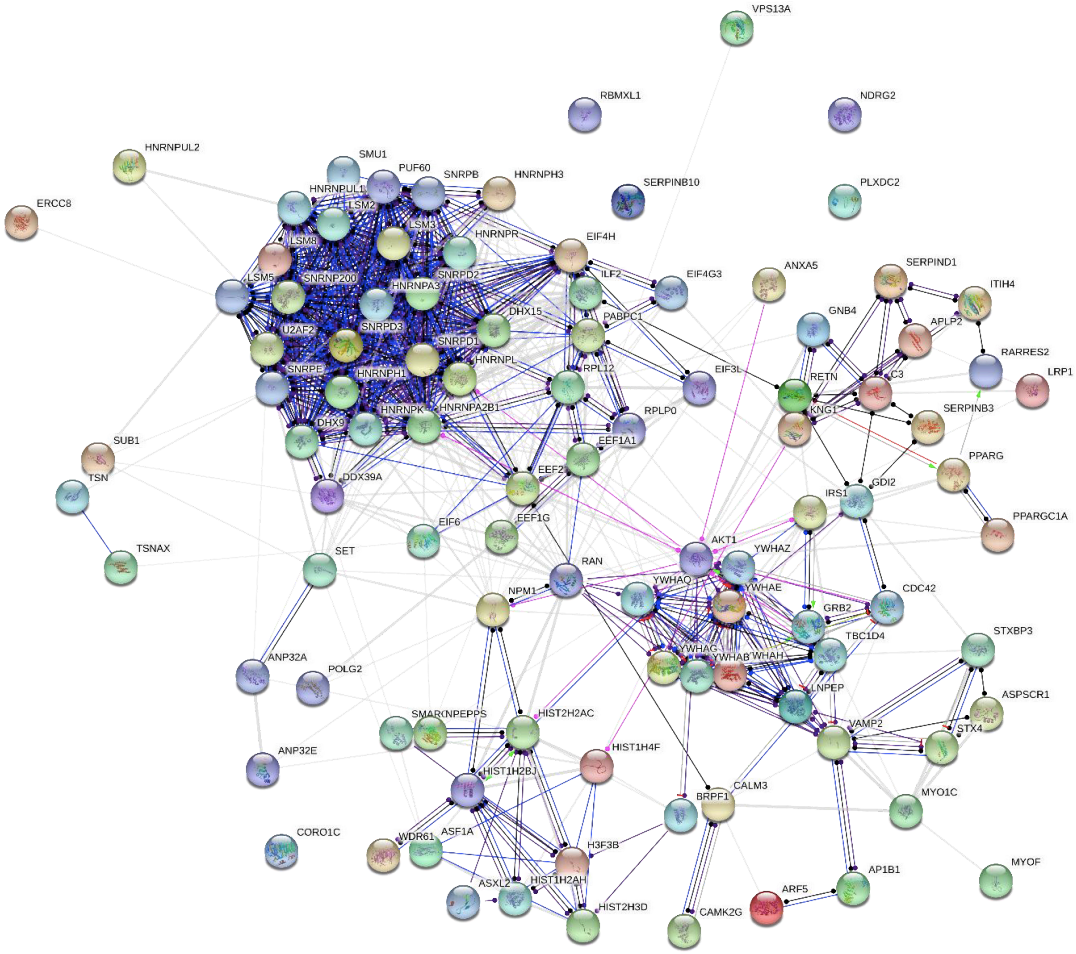

Figura complementaria 6. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas importantes en la regulación de la glucosa en sangre. Los círculos señalan las 3 proteínas relevantes en la vía. Los círculos rojos señalan a las proteínas importantes en la ruta molecular. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas, destacando que las flechas de color verde indican la activación de la proteína blanco y las rojas inhibición.

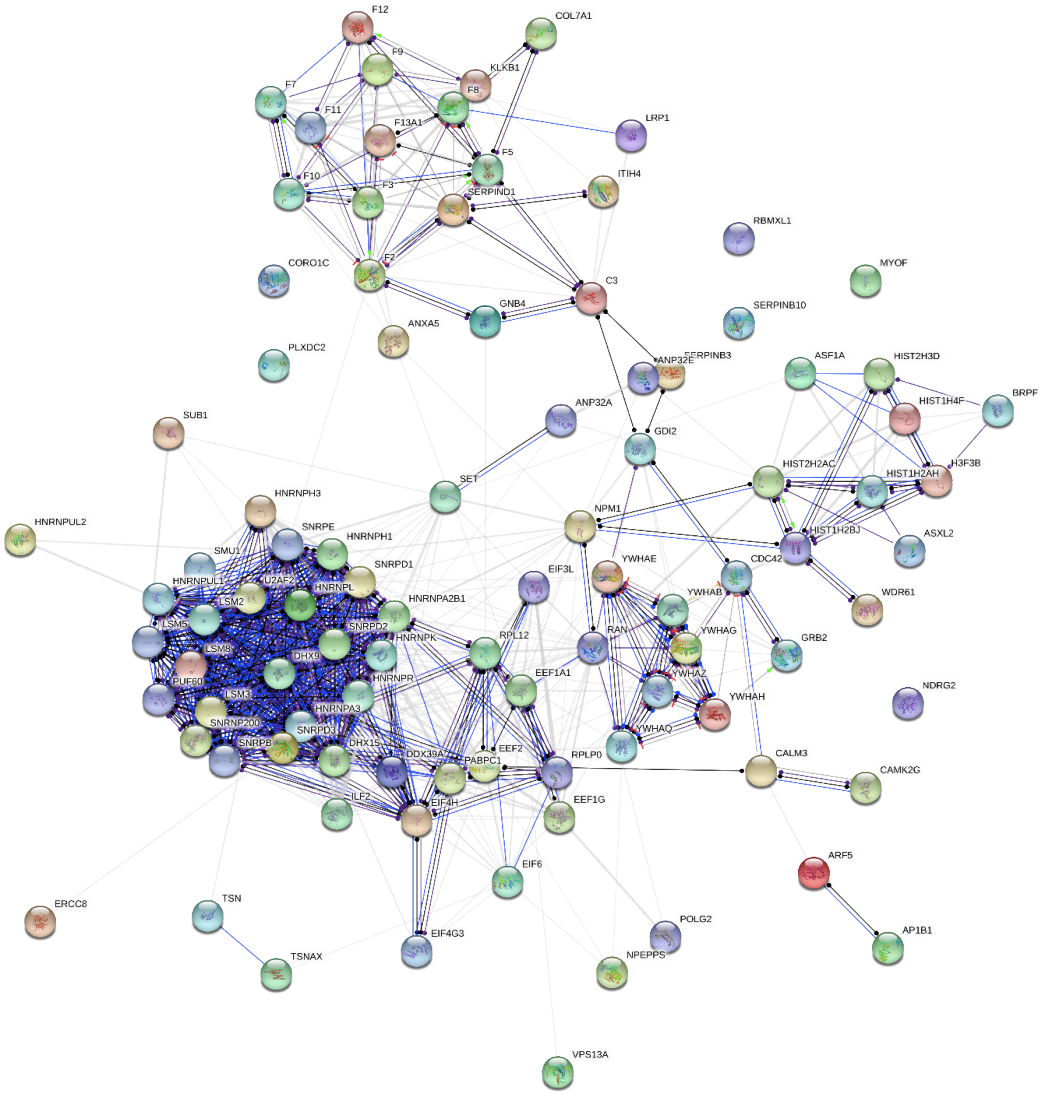

Figura complementaría 7. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas importantes de la cascada de coagulación. Los círculos rojos encierran a las proteínas relevantes en la vía. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas, destacando que las flechas de color verde indican la activación de la proteína blanco y las rojas inhibición.

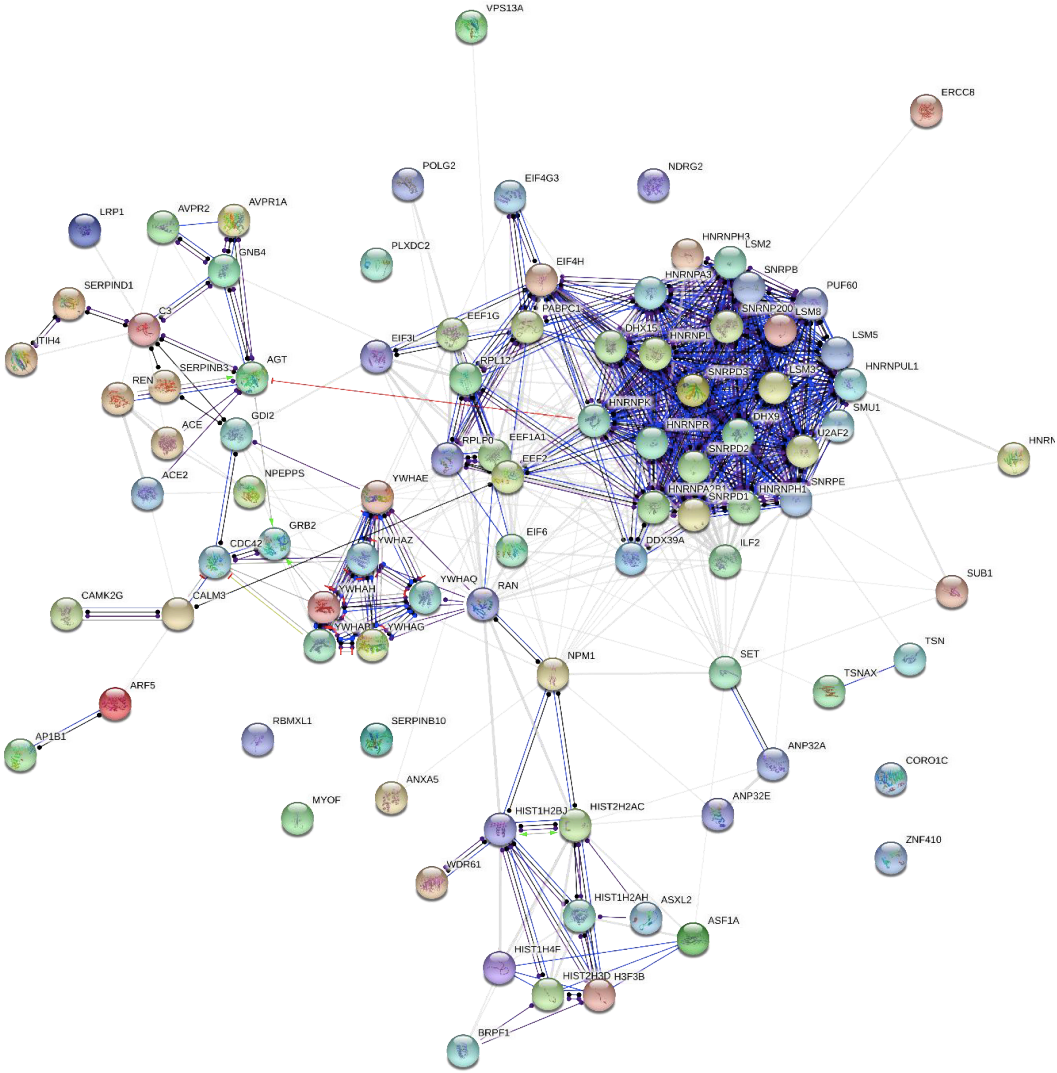

Figura complementaria 8. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas esenciales en la regulación de la presión arterial. Los círculos rojos resaltan a las proteínas importantes en la vía. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas, destacando que las flechas de color verde indican la activación de la proteína blanco y las rojas inhibición.

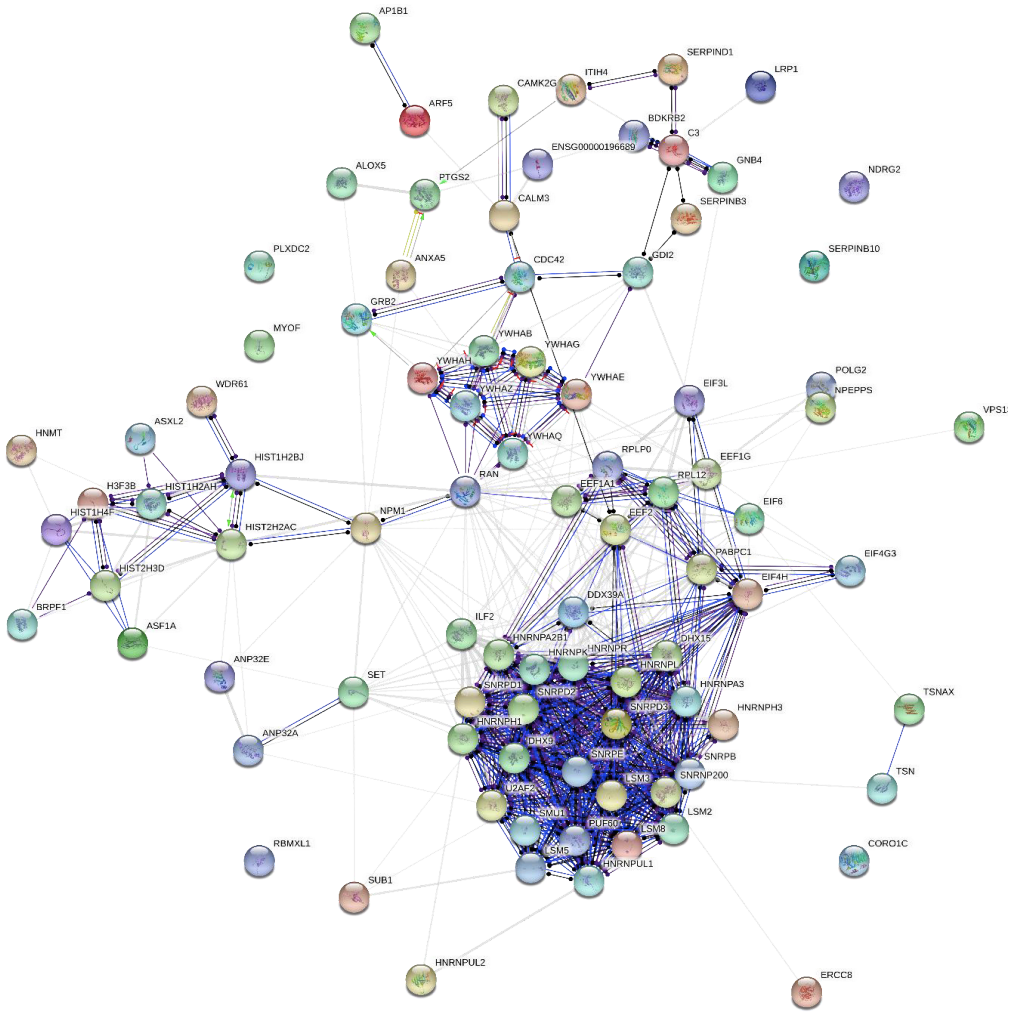

Figura complementaria 9. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas implicadas en la vía nociceptiva. Los círculos enmarcan a las proteínas relevantes en la vía. Los círculos rojos resaltan a las proteínas importantes en la vía. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas, destacando que las flechas de color verde indican la activación de la proteína blanco y las rojas inhibición.

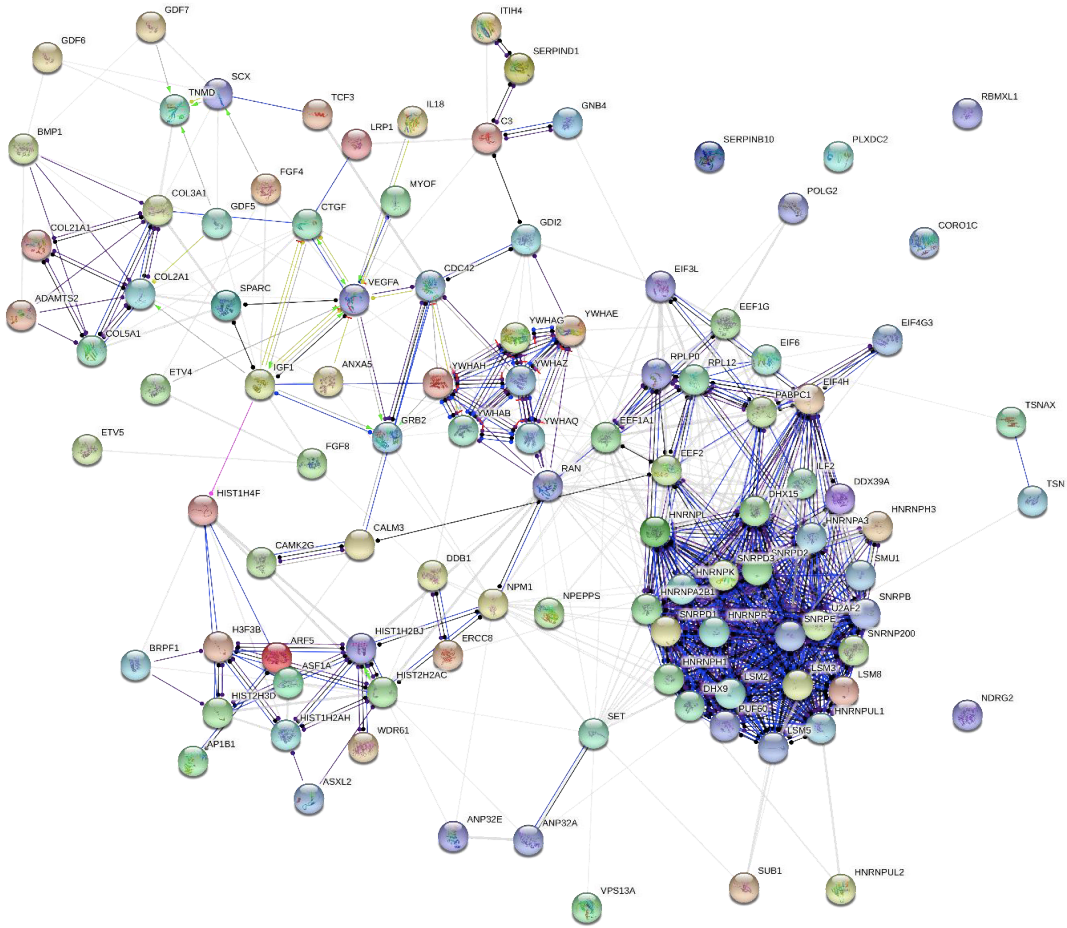

Figura complementaria 10. Interactoma de las proteínas del EDLc y las proteínas involucradas en la regeneración de tendones. Los círculos rojos encierran a las proteínas importantes en la vía. Las líneas de colores indican interacciones entre proteínas reportadas en distintas fuentes científicas, destacando que las flechas de color verde indican la activación de la proteína blanco y las rojas inhibición.

REFERENCIAS

Acosta, P., Pérez, N., Pérez, E., Correa, B., Pérez, C., Gómez, C., Sánchez, V., & Pérez, D. G. (2016). Anti-inflammatory effect of dialysable leucocyte extract in a rat model of osteoarthritis: histopathological and molecular characterization. Scandinavian Journal of Rheumatology, 45(6). https://doi.org/10.3109/03009742.2016.1153140

Acosta-Rios, M. P., Sauer-Ramírez, E., Castro-Muñoz, L. J., García-Solís, M., Gómez-García, C., Ocadiz-Delgado, R., Martinez-Martinez, A., Sánchez-Monroy, V., Pérez-De la Mora, C., Correa-Meza, B., & Perez-Ishiwara, D. G. (2017). Effect of Dialyzable Leukocyte Extract on chronic cervicitis in patients with HPV infection. Journal of Medicine and Life, 10(4).

Admassu, H., Gasmalla, M. A. A., Yang, R., & Zhao, W. (2018a). Bioactive peptides derived from seaweed protein and their health benefits: antihypertensive, antioxidant, and antidiabetic properties. In Journal of Food Science (Vol. 83, Issue 1). https://doi.org/10.1111/1750-3841.14011

Admassu, H., Gasmalla, M. A. A., Yang, R., & Zhao, W. (2018b). Identification of bioactive peptides with α-amylase inhibitory potential from enzymatic protein hydrolysates of red seaweed (*Porphyra spp*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 66(19). https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00960

Agyei, D., & Danquah, M. K. (2011). Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides. In Biotechnology Advances (Vol. 29, Issue 3). https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.001

Agyei, D., Ongkudon, C. M., Wei, C. Y., Chan, A. S., & Danquah, M. K. (2016). Bioprocess challenges to the isolation and purification of bioactive peptides. In Food and Bioproducts Processing (Vol. 98). https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.02.003

Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S., & Uversky, V. N. (2022). Bioactive peptides: synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action. In International Journal of Molecular Sciences (Vol. 23, Issue 3). https://doi.org/10.3390/ijms23031445

Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2016). Introducción a la biología celular. In Journal of Chemical Information and Modeling (Vol. 53, Issue 9).

Aluko, R. E. (2015). Amino acids, peptides, and proteins as antioxidants for food preservation. In Handbook of Antioxidants for Food Preservation. https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00005-1

Arrutia, F., Puente, Á., Riera, F. A., Menéndez, C., & González, U. A. (2016). Influence of heat pre-treatment on BSA tryptic hydrolysis and peptide release. Food Chemistry, 202. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.107

Aslam, B., Basit, M., Nisar, M. A., Khurshid, M., & Rasool, M. H. (2017). Proteomics: Technologies and their applications. In Journal of Chromatographic Science (Vol. 55, Issue 2). https://doi.org/10.1093/chromsci/bmw167

Barati, M., Javanmardi, F., Mousavi Jazayeri, S. M. H., Jabbari, M., Rahmani, J., Barati, F., Nickho, H., Davoodi, S. H., Roshanravan, N., & Mousavi Khaneghah, A. (2020). Techniques, perspectives, and challenges of bioactive peptide generation: A comprehensive systematic review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 19(4). https://doi.org/10.1111/1541-4337.12578

Barrios, M. A. C., Montiel, B. N. R., Mourelle, J. A. F., Carbonell, L. A., Barbado, D. M. C., & Hernández, J. J. R. (2006). Efectos adversos asociados al tratamiento con factor de transferencia. Ciudad de la Habana, 2004. Revista Cubana de Farmacia, 40(1).

Bechaux, J., Gatellier, P., le Page, J. F., Drillet, Y., & Sante-Lhoutellier, V. (2019). A comprehensive review of bioactive peptides obtained from animal byproducts and their applications. Food and Function, 10(10). https://doi.org/10.1039/c9fo01546a

Borer, J. S. (2007). Angiotensin-converting enzyme inhibition: A landmark advance in treatment for cardiovascular diseases. In European Heart Journal, Supplement (Vol. 9, Issue E). https://doi.org/10.1093/eurheartj/sum037

Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D., & Nasri, M. (2010). Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (Sardinella aurita) by-products proteins. Food Chemistry, 118(3). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.021

Boukil, A., Suwal, S., Chamberland, J., Pouliot, Y., & Doyen, A. (2018). Ultrafiltration performance and recovery of bioactive peptides after fractionation of tryptic hydrolysate generated from pressure-treated B-lactoglobulin. Journal of Membrane Science, 556. https://doi.org/10.1016/j.memsci.2018.03.079

Boutrou, R., Henry, G., & Sanchez-Rivera, L. (2015). On the trail of milk bioactive peptides in human and animal intestinal tracts during digestion: A review. In Dairy Science and Technology (Vol. 95, Issue 6). https://doi.org/10.1007/s13594-015-0210-0

Brogden, K. A. (2005). Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?. In Nature Reviews Microbiology (Vol. 3, Issue 3). https://doi.org/10.1038/nrmicro1098

Brooks, D. S. (2021). A new look at 'levels of organization' in biology. Erkenntnis, 86(6). https://doi.org/10.1007/s10670-019-00166-7

Cabezas Quiroga, R., Estrada Parra, S., Padierna, L., Padierna, J., Fernández, C., & López, P. (1990). Inmunoterapia con Factor de Transferencia en pacientes con herpes zoster TT-Immunotherapy with transfer factor in patients with herpes zoster. Biotecnol. Apl, 7(1).

Cabezas. R., Estrada-Parra, S., Padiern, L., Padierna, J., & Fernández, C. (1988). Uso terapéutico e inmunoregulador del del Factor de Transferncia en el asma bronquial extrínseca. Rev. del centro de investigaciones medico quirúrgicas. Vol. 2

Çakır, B., Okuyan, B., Şener, G., & Tunali-Akbay, T. (2021). Investigation of beta-lactoglobulin derived bioactive peptides against SARS-CoV-2 (COVID-19): In silico analysis. European Journal of Pharmacology, 891. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173781

Carrasco, C. A., & Guerra, M. (2010). Lactosuero como fuente de péptidos bioactivos. Anales Venezolanos de Nutrición, 23(1).

Chakrabarti, S., & Wu, J. (2015). Milk-derived tripeptides IPP (Ile-Pro-Pro) and VPP (Val-Pro- Pro) promote adipocyte differentiation and inhibit inflammation in 3T3-F442A cells. PLoS ONE, 10(2). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117492

Chakrabarti, S., Jahandideh, F., & Wu, J. (2014). Food-derived bioactive peptides on inflammation and oxidative stress. In BioMed Research International (Vol. 2014). https://doi.org/10.1155/2014/608979

Chatterjee, C., Gleddie, S., & Xiao, C. W. (2018). Soybean bioactive peptides and their functional properties. In Nutrients (Vol. 10, Issue 9). https://doi.org/10.3390/nu10091211

Chatterton, D. E. W., Nguyen, D. N., Bering, S. B., & Sangild, P. T. (2013). Anti-inflammatory mechanisms of bioactive milk proteins in the intestine of newborns. In International Journal of Biochemistry and Cell Biology (Vol. 45, Issue 8). https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.04.028

Chauhan, V., & Kanwar, S. S. (2019). Bioactive peptides: Synthesis, functions and biotechnological applications. In Biotechnological Production of Bioactive Compounds. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64323-0.00004-7

Chen, L. F., & Greene, W. C. (2004). Shaping the nuclear action of NF-κB. In Nature Reviews Molecular Cell Biology (Vol. 5, Issue 5). https://doi.org/10.1038/nrm1368

Cicero, A. F. G., Fogacci, F., & Colletti, A. (2017). Potential role of bioactive peptides in prevention and treatment of chronic diseases: a narrative review. In British Journal of Pharmacology (Vol. 174, Issue 11). https://doi.org/10.1111/bph.13608

Clare, D. A., & Swaisgood, H. E. (2000). Bioactive milk peptides: A prospectus. In Journal of Dairy Science (Vol. 83, Issue 6). https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74983-6

Dadar, M., Shahali, Y., Chakraborty, S., Prasad, M., Tahoori, F., Tiwari, R., & Dhama, K. (2019). Antiinflammatory peptides: current knowledge and promising prospects. In Inflammation Research (Vol. 68, Issue 2). https://doi.org/10.1007/s00011-018-1208-x

Daliri, E. B. M., Oh, D. H., & Lee, B. H. (2017). Bioactive peptides. In Foods (Vol. 6, Issue 5). https://doi.org/10.3390/foods6050032

De la Mora, P.-D. C., Juarez, C., Mexico, A., & Guillermo Perez-Ishiwara, D. (n.d.). Effect of Dialyzable Leukocyte Extract on chronic cervicitis in patients with HPV infection. Journal of Medicine and Life, 10, 237–243. https://doi.org/10.1186/ISRCTN16429164

Domínguez, K. N., Cruz Guerrero, A. E., Márquez, H. G., Gómez Ruiz, L. C., García-Garibay, M., & Rodríguez Serrano, G. M. (2014). El efecto antihipertensivo de las leches fermentadas. Revista Argentina de Microbiologia, 46(1). https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70050-1

Dos Reis, V. L., Argollo, A., & de Menezes, J. A. (1980). Transfer factor in diffuse cutaneous leishmaniasis. Experience with one case. Medicina Cutanea Ibero-Latino-Americana, 8(4–6).

Drouet, L., Bal dit Sollier, C., Cisse, M., Pignaud, G., Mazoyer, E., Fiat, A. M., Jolles, P., & Caen, J. P. (1990). The antithrombotic effect of KRDS, a lactotransferrin peptide, compared with RGDS. Nouvelle Revue Francaise d'Hematologie, 32(1).

Echeverri R., N. P., & Mockus S., I. (2008). Nuclear factor κB (NF-κB): Signalosoma and its importance in cancer and inflammatories diseases. Revista Facultad de Medicina (Colombia), 56(2).

Escudero, E., Mora, L., Fraser, P. D., Aristoy, M. C., & Toldrá, F. (2013). Identification of novel antioxidant peptides generated in Spanish dry-cured ham. Food Chemistry, 138(2–3). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.133

Estrada Parra, S., Velasco Castrejón, O., Rébora, F., Díaz, M. L., & Padierna, J. (1983). Inmunoterapia de la tuberculosis pulmonar avanzada con factor de transferencia específico. Salud Publica de Mexico, 25(6).

Fudenberg, H. H. (1976). Dialyzable Transfer Factor in the treatment of human osteosarcoma: an analytic review. Annals of the New York Academy of Sciences, 277(1). https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1976.tb41729.x

Gill, H. S., Doull, F., Rutherfurd, K. J., & Cross, M. L. (2000). Immunoregulatory peptides in bovine milk. In British Journal of Nutrition (Vol. 84, Issue SUPPL. 1). https://doi.org/10.1017/s0007114500002336

Gobbetti, M., Stepaniak, L., de Angelis, M., Corsetti, A., & di Cagno, R. (2002). Latent bioactive peptides in milk proteins: Proteolytic activation and significance in dairy processing. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 42(3). https://doi.org/10.1080/10408690290825538

González-González, C., Gibson, T., & Jauregi, P. (2013). Novel probiotic-fermented milk with angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced by Bifidobacterium bifidum MF 20/5. International Journal of Food Microbiology, 167(2). https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.002

Grand View Research, T. M. (2016). Global Industry analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast. Pept. Mark. 2016–2024.

Grand View Research, T. M. (2022). Global Industry analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast. Pept. Mark. 2022–2030.

Greenwell, T. N., Martin-Schild, S., Inglis, F. M., & Zadina, J. E. (2007). Colocalization and shared distribution of endomorphins with substance P, calcitonin gene-related peptide, γ-aminobutyric acid, and the Mu opioid receptor. Journal of Comparative Neurology, 503(2). https://doi.org/10.1002/cne.21374

Group, N. (2020). Top 200 Pharmaceuticals by Retail Sales in 2019. University of Arizona

Habar, T. R., Islam, A. A., Hatta, M., Warsinggih, Mahmudi, A., Massi, M. N., Bukhari, A., Kusmayadi, D. D., Diposarosa, R., & Mappiwali, A. (2021). Transfer Factor treatment in management of peritonitis condition: An experimental study in rat. Annals of Medicine and Surgery, 69. https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.102755

Harris, J. R., & Markl, J. (2000). Keyhole limpet hemocyanin: Molecular structure of a potent marine immunoactivator. European Urology, 37(SUPPL. 3). https://doi.org/10.1159/000052389

Holdcroft, A. (1975). Prostaglandins: A review. In Anaesthesia and intensive care (Vol. 3, Issue 2). https://doi.org/10.1177/0310057x7500300204

Ivanov, V. T., Karelin, A. A., Philippova, M. M., Nazimov, I. v., & Pletnev, V. Z. (1997). Hemoglobin as a source of endogenous bioactive peptides: The concept of tissue-specific peptide pool. Biopolymers - Peptide Science Section, 43(2).

https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0282(1997)43:2<171::AID-BIP10>3.0.CO;2-O

Iwamoto, Y., Robey, F. A., Graf, J., Sasaki, M., Kleinman, H. K., Yamada, Y., & Martin, G. R. (1987). YIGSR, a synthetic laminin pentapeptide, inhibits experimental metastasis formation. Science, 238(4830). https://doi.org/10.1126/science.2961059

Jang, A., Jo, C., Kang, K. S., & Lee, M. (2008). Antimicrobial and human cancer cell cytotoxic effect of synthetic Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) inhibitory peptides. Food Chemistry, 107(1). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.036

Jaworska, M., Kłaczkow, G., Wilk, M., & Anuszewska, E. (2012). Analysis of biologically active peptides using two-dimensional HPLC-CE. Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research, 69(5).

Jones, J. F., Jeter, W. S., Fulginiti, V. A., Minnich, L. L., Pritchett, R. F., & Wedgwood, R. J. (1981). Treatment of childhood combined epstein-barr virus/cytomegalovirus infection with oral bovine transfer factor. The Lancet, 318(8238). https://doi.org/10.1016/S0140-6736(81)90301-9

Kamau, S. M., Cheison, S. C., Chen, W., Liu, X. M., & Lu, R. R. (2010). Alpha-lactalbumin: Its production technologies and bioactive peptides. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9(2). https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00100.x

Kaneko, K. (2021). Appetite regulation by plant-derived bioactive peptides for promoting health. Peptides, 144. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2021.170608

Kaur-Atwal, G., Weston, D. J., Green, P. S., Crosland, S., Bonner, P. L. R., & Creaser, C. S. (2007). Analysis of tryptic peptides using desorption electrospray ionisation combined with ion mobility spectrometry/mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 21(7). https://doi.org/10.1002/rcm.2941

Kim, J. H., Kim, D. H., Jo, S., Cho, M. J., Cho, Y. R., Lee, Y. J., & Byun, S. (2022). Immunomodulatory functional foods and their molecular mechanisms. In Experimental and Molecular Medicine (Vol. 54, Issue 1). https://doi.org/10.1038/s12276-022-00724-0

Kirkpatrick, C. H. (1993). Structural nature and functions of Transfer Factors. Annals of the New York Academy of Sciences, 685(1). https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb35889.x

Kitts, D., & Weiler, K. (2005). Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. Current Pharmaceutical Design, 9(16). https://doi.org/10.2174/1381612033454883

Koolman, J., & Rohm, H.-K. (2012). Bioquímica humana. Texto y Atlas.

Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2005). Food-derived bioactive peptides - opportunities for designing future foods. Current Pharmaceutical Design, 9(16). https://doi.org/10.2174/1381612033454892

Kovacs-Nolan, J., Zhang, H., Ibuki, M., Nakamori, T., Yoshiura, K., Turner, P. v., Matsui, T., & Mine, Y. (2012). The PepT1-transportable soy tripeptide VPY reduces intestinal inflammation. Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects, 1820(11). https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.07.007

Krishnaveni, M. (2013). A review on Transfer Factor an immune modulator. In Drug Invention Today (Vol. 5, Issue 2). https://doi.org/10.1016/j.dit.2013.04.002

Ku, S. K., & Bae, J. S. (2014). Antithrombotic activities of wogonin and wogonoside via inhibiting platelet aggregation. Fitoterapia, 98. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.07.006

Lafarga, T., Aluko, R. E., Rai, D. K., O'Connor, P., & Hayes, M. (2016). Identification of bioactive peptides from a papain hydrolysate of bovine serum albumin and assessment of an antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. Food Research International, 81. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.007

Lahov, E., & Regelson, W. (1996). Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: Casecidin, isracidin peptides. In Food and Chemical Toxicology (Vol. 34, Issue 1). https://doi.org/10.1016/0278-6915(95)00097-6

Lamm, D. L., DeHaven, J. I., Riggs, D. R., Delgra, C., & Burrell, R. (1993). Keyhole limpet hemocyanin immunotherapy of murine bladder cancer. Urological Research, 21(1). https://doi.org/10.1007/BF00295189

Lammi, C., Zanoni, C., & Arnoldi, A. (2015). IAVPGEVA, IAVPTGVA, and LPYP, three peptides from soy glycinin, modulate cholesterol metabolism in HepG2 cells through the activation of the LDLR-SREBP2 pathway. Journal of Functional Foods, 14. https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.021

Lassoued, I., Mora, L., Barkia, A., Aristoy, M. C., Nasri, M., & Toldrá, F. (2015). Bioactive peptides identified in thornback ray skin's gelatin hydrolysates by proteases from Bacillus subtilis and *Bacillus amyloliquefaciens*. Journal of Proteomics, 128. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.06.016

Laurent, C. D., st. Laurent, K. E., Mathison, R. D., & Befus, A. D. (2015). Calcium-binding protein, spermatid-specific 1 is expressed in human salivary glands and contains an anti-inflammatory motif. American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology, 308(7). https://doi.org/10.1152/ajpregu.00153.2014

Lee, H. J., Lee, H. S., Choi, J. W., Ra, K. S., Kim, J. M., & Suh, H. J. (2011). Novel tripeptides with α-glucosidase inhibitory activity isolated from silk cocoon hydrolysate. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(21). https://doi.org/10.1021/jf202686m

Lee, K. A., & Kim, S. H. (2005). SSGE and DEE, new peptides isolated from a soy protein hydrolysate that inhibit platelet aggregation. Food chemistry, 90(3). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.010

Levin, A. S., Spitler, L. E., Stites, D. P., & Fudenberg, H. H. (1970). Wiskott-Aldrich syndrome, a genetically determined cellular immunologic deficiency: Clinical and laboratory responses to therapy with transfer factor. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 67(2). https://doi.org/10.1073/pnas.67.2.821

Li-Chan, E. C. Y., Hunag, S. L., Jao, C. L., Ho, K. P., & Hsu, K. C. (2012). Peptides derived from Atlantic salmon skin gelatin as dipeptidyl-peptidase IV inhibitors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60(4). https://doi.org/10.1021/jf204720q

Lo, H. Y., Li, C. C., Ho, T. Y., & Hsiang, C. Y. (2016). Identification of the bioactive and consensus peptide motif from *Momordica charantia* insulin receptor-binding protein. Food Chemistry, 204. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.135

Majumder, K., Chakrabarti, S., Davidge, S. T., & Wu, J. (2013). Structure and activity study of egg protein ovotransferrin derived peptides (IRW and IQW) on endothelial inflammatory response and oxidative stress. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(9). https://doi.org/10.1021/jf3046076

Martinez-Lacoba, R., Pardo-Garcia, I., Amo-Saus, E., & Escribano-Sotos, F. (2018). Socioeconomic, demographic and lifestyle-related factors associated with unhealthy diet: A cross-sectional study of university students. BMC Public Health, 18(1). https://doi.org/10.1186/s12889-018-6149-3

Martínez-Torres, A. C., Reyes-Ruiz, A., Calvillo-Rodriguez, K. M., Alvarez-Valadez, K. M., Uscanga-Palomeque, A. C., Tamez-Guerra, R. S., & Rodríguez-Padilla, C. (2020). IMMUNEPOTENT CRP induces DAMPS release and ROS-dependent autophagosome formation in HeLa and MCF-7 cells. BMC Cancer, 20(1). https://doi.org/10.1186/s12885-020-07124-5

Maruyama, S., Mitachi, H., Tanaka, H., Tomizuka, N., & Suzuki, H. (1987). Studies on the active site and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitors derived from casein. Agricultural and Biological Chemistry, 51(6). https://doi.org/10.1080/00021369.1987.10868244

Masi, C., D. V., & O.R., B. (1996). Transfer Factor in chronic mucocutaneous candidiasis. In Biotherapy (Vol. 9, Issues 1–3).

Meisel, H., & Bockelmann, W. (1999). Bioactive peptides encrypted in milk proteins: Proteolytic activation and thropho-functional properties. Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology, 76(1–4). https://doi.org/10.1023/A:1002063805780

Meisel, H., & Schlimme, E. (1990). Milk proteins: precursors of bioactive peptides. In Trends in Food Science and Technology (Vol. 1, Issue C). https://doi.org/10.1016/0924-2244(90)90029-X

Mellander, O. (1950). The physiological importance of the casein phosphopeptide calcium salts. II. Peroral calcium dosage of infants. Acta Societatis Medicorum Upsaliensis, 55(5–6).

Miguel, M., Alvarez, Y., López-Fandiño, R., Alonso, M. J., & Salaices, M. (2007). Vasodilator effects of peptides derived from egg white proteins. Regulatory Peptides, 140(3). https://doi.org/10.1016/j.regpep.2006.11.029

Milich, D. R., Chen, M. K., Hughes, J. L., & Jones, J. E. (1998). The secreted hepatitis B precore antigen can modulate the immune response to the nucleocapsid: a mechanism for persistence. Journal of Immunology (Baltimore, Md:1950), 160(4).

Monti, M., Orrù, S., Pagnozzi, D., & Pucci, P. (2005). Functional proteomics. Clinica Chimica Acta, 357(2). https://doi.org/10.1016/j.cccn.2005.03.019

Morato, P. N., Lollo, P. C. B., Moura, C. S., Batista, T. M., Carneiro, E. M., & Amaya-Farfan, J. (2013). A dipeptide and an amino acid present in whey protein hydrolysate increase translocation of GLUT-4 to the plasma membrane in Wistar rats. Food Chemistry, 139(1–4). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.062

Mulero Cánovas, J., Zafrilla Rentero, P., Martínez-Cachá Martínez, A., Leal Hernández, M., & Abellán Alemán, J. (2011). Péptidos bioactivos. In Clinica e investigación en arteriosclerosis (Vol. 23, Issue 5). https://doi.org/10.1016/j.arteri.2011.04.004

Mullally, M. M., Meisel, H., & Fitzgerald, R. J. (1996). Synthetic peptides corresponding to α-lactalbumin and β-lactoglobulin sequences with angiotensin-i-converting enzyme inhibitory activity. Biological Chemistry Hoppe-Seyler, 377(4).

Müller, J. B., Geyer, P. E., Colaço, A. R., Treit, P. v., Strauss, M. T., Oroshi, M., Doll, S., Virreira Winter, S., Bader, J. M., Köhler, N., Theis, F., Santos, A., & Mann, M. (2020). The proteome landscape of the kingdoms of life. Nature, 582(7813). https://doi.org/10.1038/s41586-020-2402-x

Muttenthaler, M., King, G. F., Adams, D. J., & Alewood, P. F. (2021). Trends in peptide drug discovery. In Nature Reviews Drug Discovery (Vol. 20, Issue 4). https://doi.org/10.1038/s41573-020-00135-8

Nakamura, Y., Yamamoto, N., Sakai, K., Okubo, A., Yamazaki, S., & Takano, T. (1995). Purification and characterization of Angiotensin I-Converting Enzyme inhibitors from sour milk. Journal of Dairy Science, 78(4). https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76689-9

Nicholas, C., & Lesinski, G. B. (2011). Immunomodulatory cytokines as therapeutic agents for melanoma. In Immunotherapy (Vol. 3, Issue 5). https://doi.org/10.2217/imt.11.45

Nongonierma, A. B., & Fitzgerald, R. J. (2015). Milk proteins as a source of tryptophan-containing bioactive peptides. In Food and Function (Vol. 6, Issue 7). https://doi.org/10.1039/c5fo00407a

Nurminen, M. L., Sipola, M., Kaarto, H., Pihlanto-Leppälä, A., Piilola, K., Korpela, R., Tossavainen, O., Korhonen, H., & Vapaatalo, H. (2000). α-Lactorphin lowers blood pressure measured by radiotelemetry in normotensive and spontaneously hypertensive rats. Life Sciences, 66(16). https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)00471-9

Oseguera-Toledo, M. E., Gonzalez de Mejia, E., & Amaya-Llano, S. L. (2015). Hard-to-cook bean (Phaseolus vulgaris L.) proteins hydrolyzed by alcalase and bromelain produced bioactive peptide fractions that inhibit targets of type-2 diabetes and oxidative stress. Food Research International, 76. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.046

Patil, P., Mandal, S., Tomar, S. K., & Anand, S. (2015). Food protein-derived bioactive peptides in management of type 2 diabetes. In European Journal of Nutrition (Vol. 54, Issue 6). https://doi.org/10.1007/s00394-015-0974-2

Patil, S. P., Goswami, A., Kalia, K., & Kate, A. S. (2020). Plant-derived bioactive peptides: a treatment to cure diabetes. In International Journal of Peptide Research and Therapeutics (Vol. 26, Issue 2). https://doi.org/10.1007/s10989-019-09899-z

Peighambardoust, S. H., Karami, Z., Pateiro, M., & Lorenzo, J. M. (2021). A review on health-promoting, biological, and functional aspects of bioactive peptides in food applications. In Biomolecules (Vol. 11, Issue 5). https://doi.org/10.3390/biom11050631103.

Pérez, E., Ocapmpo, J., Cabello, C., Muriel, P., Gómez, C., Pérez, A., Pérez, S & Pérez, G. (2022). Efecto inmunomodulador, y antiinflamatorio de la profilaxis con el Extracto Dializable de Leucocitos (EDLp) en un modelo murino de influenza A.

Pérez-Alvarado, C., Gómez, C., Reyes, M., García, M., Pérez, E., de La Mora, C. P., Sanchez, V., & Ishiwara, D. G. P. (2017). Anti-inflammatory effect of Dialyzable Leukocyte extract in autoimmune prostatitis: Evaluation in animal model. BioMed Research International, 2017. https://doi.org/10.1155/2017/1832853

Pérez-Ruiz, A. A., López Mantecón, A. M., & León, I. G. (2002). Antiinflamatorios no esteroideos (AINES). Consideraciones para su uso estomatológico. In Revista Cubana de Estomatologia (Vol. 39, Issue 2).

Pérez-Soto E, García-Martínez D, Gómez-García M, y Pérez-Ishiwara, G. (2015). La Influenza a, como un Problema Mundial: “Una Visión de las Terapias Inmunomoduladoras” frontera biotecnológica-Volumen 5.

Pérez-Soto, E., Sánchez-Monroy, V., Pérez-De La Mora, C., & Guillermo Pérez-Ishiwara, D. (2017). Efecto inmunomodulador del Extracto Dializable de Leucocitos (DLE) sobre la expresión génica de IFN-γ en células Jurkat. In Rev Mex Cienc Farm (Vol. 48, Issue 4).

Perumal, P., & Pandey, V. P. (2013). Antimicrobial peptides: The role of hydrophobicity in the alpha helical structure. In Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research (Vol. 1, Issue 2).

Petrillo, E. W., & Ondetti, M. A. (1982). Angiotensinconverting enzyme inhibitors: Medicinal chemistry and biological actions. Medicinal Research Reviews, 2(1). https://doi.org/10.1002/med.2610020103

Picot, L., Ravallec, R., Martine, F. P., Vandanjon, L., Jaouen, P., Chaplain-Derouiniot, M., Guérard, F., Chabeaud, A., Legal, Y., Alvarez, O. M., Bergé, J. P., Piot, J. M., Batista, I., Pires, C., Thorkelsson, G., Delannoy, C., Jakobsen, G., Johanssonm, I., & Bourseau, P. (2010). Impact of ultrafiltration and nanofiltration of an industrial fish protein hydrolysate on its bioactive properties. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(11). https://doi.org/10.1002/jsfa.4020

Pilotti. Mastrorilli, G., P., C., D. V., L., B., A., P., G., G., & A., C. (1996). Transfer Factor as an adjuvant to non-small cell lung cancer (NSCLC) therapy. Biotherapy, 9(1–3).

Pineda, B., Estrada-Parra, S., Pedraza-Medina, B., Rodriguez-Ropon, A., Pérez, R., & Arrieta, O. (2005). Interstitial transfer factor as adjuvant immunotherapy for experimental glioma. Journal of Experimental and Clinical Cancer Research, 24(4).

Pizza, G., de Vinci, C., Cuzzocrea, D., Menniti, D., Aiello, E., Maver, P., Corrado, G., Romagnoli, P., Dragoni, E., Loconte, G., Riolo, U., Palareti, A., Zucchelli, P., Fornarolai, V., & Viza, D. (1996). A preliminary report on the use of transfer factor for treating stage D3 hormone-unresponsive metastatic prostate cancer. Biotherapy, 9(1–3). https://doi.org/10.1007/BF02628669

Pizza, G., de Vinci, C., Fornarola, V., Palareti, A., Baricordi, O., & Viza, D. (1996). In vitro studies during long term oral administration of specific transfer factor. Biotherapy, 9(1–3). https://doi.org/10.1007/BF02628677

Przybylski, R., Firdaous, L., Châtaigné, G., Dhulster, P., & Nedjar, N. (2016). Production of an antimicrobial peptide derived from slaughterhouse by-product and its potential application on meat as preservative. Food Chemistry, 211. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.074

Raise, E., Guerra, L., Viza, D., Pizza, G., de Vinci, C., Schiattone, M. L., Rocaccioi, M. C. L., & Gritti, F. (1996). Preliminary results in HTV-1-infected patients treated with transfer factor (TF) and Zidovudine (ZDV). Biotherapy, 9(1–3). https://doi.org/10.1007/BF02628656

Raskob, G. E., Angchaisuksiri, P., Blanco, A. N., Büller, H., Gallus, A., Hunt, B. J., Hylek, E. M., Kakkar, T. L., Konstantinides, S. v., McCumber, M., Ozaki, Y., Wendelboe, A., & Weitz, J. I. (2014). Thrombosis: A major contributor to global disease burden. Seminars in thrombosis and hemostasis, 40(7). https://doi.org/10.1055/s-0034-1390325

Riggs, D. R., Jackson, B., Vona-Davis, L., & McFadden, D. (2002). In vitro anticancer effects of a novel immunostimulant: Keyhole limpet hemocyanin. Journal of Surgical Research, 108(2). https://doi.org/10.1006/jsre.2002.6548.120.

Rodríguez-Gómez, A., & Frias-Vázquez, S. (2014). La mitosis y su regulación. In Acta Pediatrica de Mexico (Vol. 35, Issue 1).

Sánchez, A., & Vázquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. In Food Quality and Safety (Vol. 1, Issue 1). https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx006

Sarmadi, B. H., & Ismail, A. (2010). Antioxidative peptides from food proteins: A review. In Peptides (Vol. 31, Issue 10). https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020

Seber, L. E., Barnett, B. W., McConnell, E. J., Hume, S. D., Cai, J., Boles, K., & Davis, K. R. (2012). Scalable purification and characterization of the anticancer lunasin peptide from soybean. PLoS ONE, 7(4). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035409

Steele, R. W., Heberling, R. L., Eichberg, J. W., Eller, J. J., Kalter, S. S., & Kniker, W. T. (1976). Prevention of herpes simplex virus type 1 fatal dissemination in primates with human transfer factor. In Transfer Factor. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-064650-0.50041-6

Steele, R. W., Myers, M. G., & Vincent, M. M. (1980). Transfer Factor for the prevention of varicella-zoster infection in childhood leukemia. New England Journal of Medicine, 303(7). https://doi.org/10.1056/nejm198008143030702

Su, X. L., Su, W., He, Z. L., Ming, X., & Kong, Y. (2015). Tripeptide SQL inhibits platelet aggregation and thrombus formation by affecting PI3K/AKT signaling. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 66(3). https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000269

Torres-Llanez, M. J., Vallejo-Cordoba, B., & González-Córdova, A. F. (2005). Péptidos bioactivos derivados de las proteínas de la leche. In Archivos Latinoamericanos de Nutricion (Vol. 55, Issue 2).

Tsai, S. L., Liaw, Y. F., Chen, M. H., Huang, C. Y., & Kuo, G. C. (1997). Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: Implications for hepatitis C virus chronicity. Hepatology, 25(2). https://doi.org/10.1002/hep.510250233

Ueno, K., Mizuno, S., & Yamamoto, N. (2004). Purification and characterization of an endopeptidase that has an important role in the carboxyl terminal processing of antihypertensive peptides in Lactobacillus helveticus CM4. Letters in Applied Microbiology, 39(4). https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01560.x

Velasco Castrejon, O., Estrada Parra, S., Garcia Procel, E., Velasco-Castrejón, O., García-Procel, E., Martínez, R. M., & Castro-Mussot, E. (1974). El Factor de Transferencia como único recurso terapéutico, en un caso de coccidioidomicosis crónica anérgica. Revista Latinoamericana de Microbiologia, 16(3).

Vinderola, G., de LeBlanc, A. de M., Perdigón, G., & Matar, C. (2008). Biologically active peptides released in fermented milk: Role and functions. In Handbook of Fermented Functional Foods, Second Edition. https://doi.org/10.1201/9780203009727-12

Viza, D., Vich, J. M., Phillips, J., Rosenfeld, F., & Davies, D. A. L. (1986). Specific Transfer Factor protects mice against lethal challenge with herpes simplex virus. Cellular Immunology, 100(2). https://doi.org/10.1016/0008-8749(86)90053-5

Wang, Y., Huang, Q., Kong, D., & Xu, P. (2018). Production and functionality of food-derived bioactive peptides: A Review. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 18(18). https://doi.org/10.2174/1389557518666180424110754

Wergedahl, H., Liaset, B., Gudbrandsen, O. A., Lied, E., Espe, M., Muna, Z., Mørk, S., & Berge, R. K. (2004). Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of HDL cholesterol, and lowers Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase activity in liver of Zucker rats. Journal of Nutrition, 134(6). https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1320

Wölk, M., Gebauer, C., Hoffmann, R., & Milkovska-Stamenova, S. (2021). Analysis of the endogenous peptidomes of different infant formula types and human milk. Foods, 10(11). https://doi.org/10.3390/foods10112579

Wu, S. P., Huang, T. C., Lin, C. C., Hui, C. F., Lin, C. H., & Chen, J. Y. (2012). Pardaxin, a fish antimicrobial peptide, exhibits antitumor activity toward murine fibrosarcoma in Vitro and in Vivo. Marine Drugs, 10(8). https://doi.org/10.3390/md10081852

Xing, L. J., Hu, Y. Y., Hu, H. Y., Ge, Q. F., Zhou, G. H., & Zhang, W. G. (2016). Purification and identification of antioxidative peptides from dry-cured Xuanwei ham. Food Chemistry, 194. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.101

Xu, M., Bennett, D. L. H., Querol, L. A., Wu, L. J., Irani, S. R., Watson, J. C., Pittock, S. J., & Klein, C. J. (2020). Pain and the immune system: emerging concepts of IgG-mediated autoimmune pain and immunotherapies. In Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry (Vol. 91, Issue 2). https://doi.org/10.1136/jnnp-2018-318556

Yamada, Y., Iwasaki, M., Usui, H., Ohinata, K., Marczak, E. D., Lipkowski, A. W., & Yoshikawa, M. (2010). Rapakinin, an anti-hypertensive peptide derived from rapeseed protein, dilates mesenteric artery of spontaneously hypertensive rats via the prostaglandin IP receptor followed by CCK1 receptor. Peptides, 31(5). https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.02.013

Yamauchi, R., Ohinata, K., & Yoshikawa, M. (2003). β-Lactotensin and neurotensin rapidly reduce serum cholesterol via NT2 receptor. Peptides, 24(12). https://doi.org/10.1016/j.peptides.2003.10.003

Yeo, J., & Shahidi, F. (2021). Bioactive peptides in health and disease: an overview. In biologically active peptides. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821389-6.00007-8

Yoshida, N., Ishii, E., Nomizu, M., Yamada, Y., Mohri, S., Kinukawa, N., Matsuzaki, A., Oshima, K., Hara, T., & Mlyazaki, S. (1999). The laminin-derived peptide YIGSR (Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg) inhibits human pre-B leukaemic cell growth and dissemination to organs in SCID mice. British Journal of Cancer, 80(12). https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690618

Yoshikawa, M., Fujita, H., Matoba, N., Takenaka, Y., Yamamoto, T., Yamauchi, R., Tsuruki, H., & Takahata, K. (2000). Bioactive peptides derived from food proteins preventing lifestyle-related diseases. BioFactors, 12(1–4). https://doi.org/10.1002/biof.5520120122.

Yuan, X., Gu, X., & Tang, J. (2008). Purification and characterisation of a hypoglycemic peptide from Momordica Charantia L. Var. abbreviata Ser. Food Chemistry, 111(2). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.006

Zhou, Y., Zhang, L., Yu, Z., Zhang, A., Wu, W., Chen, W., Yan, X., Liu, H., Hu, Y., Jiang, C., Xu, Y., Wang, X., & Han, S. (2019). Peptidomic analysis reveals multiple protection of human breast milk on infants during different stages. Journal of Cellular Physiology, 234(9). https://doi.org/10.1002/jcp.28199

Zioudrou, C., Streaty, R. A., & Klee, W. A. (1979). Opioid peptides derived from food proteins. The exorphins. Journal of Biological Chemistry, 254(7). https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)30243-0

SALVADOR PÉREZ MORA - Laboratorio de Biomedicina Molecular, ENMyH; Instituto Politécnico Nacional, Guillermo Massieu Helguera No. 239, CP 07320, Ciudad de México, México.

CARLOS PÉREZ DE LA MORA - Farmainmune S. A. de C. V. Naranjos No. 129, Col. Petrolera, Delegación Azcapotzalco, C.P. 02480, Ciudad de México, México.

MARÍA DEL CONSUELO GÓMEZ GARCÍA - Laboratorio de Biomedicina Molecular, ENMyH; Instituto Politécnico Nacional, Guillermo Massieu Helguera No. 239, CP 07320, Ciudad de México, México.

SANDRA PÉREZ GONZÁLEZ - Farmainmune S. A. de C. V. Naranjos No. 129, Col. Petrolera, Delegación Azcapotzalco, C.P. 02480, Ciudad de México, México.

D. GUILLERMO PÉREZ ISHIWARA - Laboratorio de Biomedicina Molecular, ENMyH; Instituto Politécnico Nacional, Guillermo Massieu Helguera No. 239, CP 07320, Ciudad de México, México. *Correspondencia al Dr. Guillermo Pérez Ishiwara, Laboratorio de Biomedicina Molecular. ENMyH. Instituto Politécnico Nacional, Tel: 57-29-63-00 Ext 55534; Fax 57-29-63-00 Ext 55534, 87801. e-mail:dperez@ipn.mx; ishiwaramx@yahoo.com.mx. Guillermo Massieu Helguera No. 239, CP 07320, Ciudad de México, México.

El **DR. DAVID GUILLERMO PÉREZ ISHIWARA** es Profesor Titular C de Tiempo Completo de la ENMyH del Instituto Politécnico Nacional. Es Miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel II. Biólogo de formación egresado con Mención Honorífica y acreedor de la Medalla Gabino Barreda de la Universidad Nacional Autónoma de México. Medalla Acatl del Ateneo Nacional de Ciencias y Artes ACATL-CONACyT, México. Realizó sus estudios de Maestría y Doctorado en Ciencias con mención honorífica en Patología Experimental en el Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-IPN). Realizó una estancia posdoctoral en el Berhard Nocht Institute en Hamburgo, Alemania. Cuenta con más de 85 publicaciones, 17 capítulos en libros nacionales e internacionales, diversos artículos de divulgación, más de 450 citas a sus trabajos científicos y ha generado 6 patentes. Ha dirigido 7 tesis de licenciatura, 6 de especialidad, 35 de maestría y 27 de doctorado. Es miembro de la Red de Biotecnología del IPN desde su fundación. Revisor de revistas científicas internacionales y acreedor a diversos premios nacionales e internacionales por investigación, entre los cuales destaca el Oustanding prize por la European Molecular Biology Organization. Ha desempeñado diversos cargos académicos y directivos. Subdirector Académico del Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada; jefe de la Sección de estudios de Posgrado e Investigación de la Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía; director del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada; y coordinador de internacionalización del IPN.

Líneas de investigación:

- El estudio de la apoptosis en el parásito *E. histolytica* y su relación con el proceso fisiopatogénico de la enfermedad.
- El desarrollo de dispositivos médicos a base de fitofármacos nanoestructurados para el tratamiento de las heridas dérmicas y la úlcera gástrica. Fitofármacos para el tratamiento del accidente vascular cerebral, el trauma craneoencefálico y la enfermedad de Parkinson; desarrollo trabajo en el área de plantas medicinales utilizadas en la cicatrización de heridas y en la regeneración tisular.
- Nano-Biosensores para la detección temprana y evolución del cáncer de próstata.
- Estudio de los efectos inmunológicos y los mecanismos de acción del extracto dializable de leucocitos (EDL) en patologías de origen inflamatorio como osteoartrosis y prostatitis autoinmune, así como en patologías de origen infeccioso como son la influenza y la infección por HPV en lesiones premalignas de cérvix. En el caso de la primera el Dr. Pérez Ishiwara ha realizado experimentos en modelos animales donde se documentan los efectos anti-inflamatorios y los mecanismos de la inmunidad innata que se modifican por el uso del EDL. También está estudiando el efecto de este extracto en la prevención, así como en la disminución de los síntomas y su efecto inmunológico y anti-inflamatorio en vías respiratorias y en tracto

genital, empleando modelos animales y mediante estudios clínicos con pacientes con lesiones premalignas NIC I. Mientras que, en la prostatitis, ha evaluado en un modelo animal los procesos celulares y moleculares de esta patología y los cambios que induce la aplicación de este extracto siguiendo diferentes tratamientos.

Extracto Dializable de Leucocitos vs Factor de Transferencia

UN CAMBIO EN EL PARADIGMA

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena Editora
Ano 2023

Extracto Dializable de Leucocitos vs Factor de Transferencia

UN CAMBIO EN EL PARADIGMA

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena Editora
Ano 2023